



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE QUÍMICA

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS BÍOQUÍMICAS

CONTRIBUCIÓN DE VARIANTES COMUNES ASOCIADAS A LA OBESIDAD IDENTIFICADAS A TRAVÉS DE ESCRUTINIOS DEL GENOMA COMPLETO: ESTUDIO EN POBLACIÓN ADULTA, INFANTIL E ÍNDIGENA MEXICANA.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS (BIOQUÍMICAS)

P R E S E N T A :

Lic. en Nut. PAOLA VIRIDIANA LÉON MIMILA

DIRECTOR DE TESIS: Dr. SAMUEL CANIZALES QUINTEROS



MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

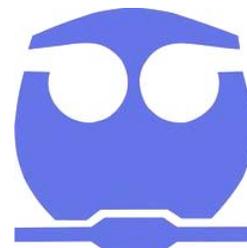
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTRIBUCIÓN DE LOS PRINCIPALES GENES ASOCIADOS AL DESARROLLO DE OBESIDAD POR ESCRUTINIOS DEL GENOMA COMPLETO (GWAS): ESTUDIO EN POBLACIÓN ADULTA, INFANTIL E ÍNDIGENA MEXICANA.

RECONOCIMIENTOS



Esta tesis se realizó bajo la dirección del Dr. Samuel Canizales Quinteros en la Unidad de Biología Molecular y Medicina Genómica del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, Facultad de Química, UNAM.



El Comité Tutorial que asesoró el desarrollo de esta tesis estuvo formado por:

Dr. Samuel Canizales Quinteros	Facultad de Química, UNAM, INCMNSZ.
Dra. Martha Menjivar Iraheta	Facultad de Química, UNAM.
Dr. Armando Tovar Palacio	Departamento de Fisiología de la Nutrición, INCMNSZ.

Se reconoce la asesoría de la Dra. Sandra Romero Hidalgo (INMEGEN) en el análisis estadístico del presente trabajo.

El proyecto fue apoyado parcialmente por CONACYT (FOSISS 113861). Durante los estudios de maestría goce de una beca otorgada por CONACYT para la realización de la presente tesis.

ÍNDICE

1. Resumen	5
2. Abreviaturas	7
3. Antecedentes	9
3.1. Obesidad	10
3.2. Diagnóstico	10
3.2.1. Adultos	10
3.2.2. Niños	12
3.3. Prevalencia	13
3.3.1. Adultos	13
3.3.2. Niños	14
3.4. Fisiopatología	15
3.4.1. Alteración del Metabolismo Energético	15
3.4.2. Alteración del del Adipocito	16
3.4.3. Alteración Neuroconductual	17
3.5. Comorbilidades	18
3.5.1. Resistencia a la Insulina	19
3.6. Etiología	20
3.6.1. Factores Ambientales	21
3.6.2. Factores Genéticos	21
3.6.2.1. Obesidad Monogénica y Poligénica	21
3.6.2.1.1. Obesidad Monogénica	22
3.6.2.1.2. Obesidad Poligénica	22
3.6.2.2. Heredabilidad	22
3.6.2.3. Estrategias para identificación de genes de susceptibilidad	24
3.6.2.3.1. Análisis de ligamiento	24
3.6.2.3.2. Genes candidatos	25
3.6.2.3.3. GWAS	26
3.6.3. Estudios de genética de obesidad en población mexicana	28
4. Planteamiento del Problema	32
5. Hipótesis	33
6. Objetivos	33
6.1. Objetivo General	33

6.2. Objetivos particulares	33
7. Materiales y Métodos	34
8. Resultados	39
9. Discusión	45
10. Conclusiones	52
11. Referencias	53
12. Anexo	61

1. RESUMEN

Introducción. La obesidad común es una enfermedad crónica, compleja y multifactorial, la cual se desarrolla en respuesta a la interacción de factores ambientales y múltiples genes, con una heredabilidad estimada de hasta el 70%. A la fecha se dispone de diversas estrategias para el estudio de la genética de la obesidad, incluyendo estudios de ligamiento, estudios de genes candidatos y escrutinios completos del genoma (GWAS). Estos últimos han proporcionado localizaciones genómicas más precisas de genes relacionados con la obesidad. De manera reciente, a través de estos estudios realizados principalmente en población de origen europeo, se han identificado variantes en o cercanas a 16 nuevos genes relacionados con el desarrollo de obesidad con funciones poco conocidas. La mayoría de ellos se encuentran implicados en funciones esenciales a nivel de sistema nervioso central, sugiriéndose su participación en la obesidad a través de la regulación de mecanismos de saciedad. Poco se sabe de la participación de los genes identificados en los GWAS en las poblaciones mestizas como la mexicana. Por ello, el objetivo del estudio fue evaluar la contribución de 18 variantes previamente asociadas al desarrollo de obesidad en población adulta, infantil e indígena mexicana. Para ello, el presente estudio comprendió 2 etapas: en la primera (Estudio de asociación caso-control) se analizaron 18 polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) localizados en 17 diferentes genes. Estos SNPs fueron genotipificados en 1156 sujetos mexicanos mestizos no relacionados (473 delgados con un $IMC < 25 \text{ kg/m}^2$, mayores de 30 años, en 441 obesos con $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ y $< 40 \text{ kg/m}^2$ y en 242 obesos mórbidos con $IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$). En la segunda etapa, (Réplica en 3 cohortes) se analizaron los SNPs que resultaron asociados en el caso-control en 3 diferentes cohortes incluyendo población adulta (942 sujetos mexicanos mestizos no relacionados con una edad mayor a 18 años), población infantil (1214 niños y adolescentes mexicanos no relacionados de 6 a 15 años) y población indígena (768 sujetos no relacionados de 6 grupos étnicos). Los SNPs fueron genotipificados por medio de sondas TaqMan o por el método KASPar. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa estadístico SPSS para Windows versión 15.0.

Resultados: El 29.4% de los genes (5 de 18 variantes en 17 genes) mostró asociación significativa con la obesidad o con algún grado de obesidad. Así al comparar todos los sujetos obesos vs sujetos delgados se observó asociación con las variantes rs6548238, rs7566605 y rs7138803 en o cercanas a los genes *TMEM18* ($P=0.004$), *INSIG2* ($P=0.005$) y *BCDIN3* ($P=0.038$) respectivamente. Al estratificar por el grado de obesidad se encontró

asociación con el SNP rs7498665 del gen *SH2B1* en los obesos grado I y II ($P=0.045$) y con el SNP rs17782313 del gen *MC4R* con la obesidad grado III o mórbida ($P=0.004$). Todos los resultados permanecieron significativos al ajustar por mezcla étnica.

El análisis de réplica en 3 cohortes de población adulta (mestiza e indígena) e infantil de los 10 SNPs que mostraron tendencia o significancia a un mayor riesgo de obesidad, incluyendo los 5 previamente descritos confirmó la participación de los SNPs de los genes *TMEM18*, *INSIG2* y *BCDIN3* los cuales mostraron asociación a un mayor IMC en población adulta mestiza, pero solo este último mostró asociación significativa en la población infantil ($P=0.008$). Además, en este grupo etario se identificó asociación a un mayor IMC de los SNPs rs10938397 y rs10913469 de los genes *GNPDA2* y *SEC16B* respectivamente. Por otra parte es de llamar la atención que en la población indígena estudiada solo el SNP rs17782313 del gen *MC4R* se asoció a un mayor IMC ($P=0.011$).

Conclusiones: Este estudio mostró que cerca del 30% de los genes asociados con la obesidad, identificados a través de GWAS en poblaciones de origen europeo, también están asociados a un mayor riesgo de obesidad en la población mexicana. La falta de asociación con el IMC de la mayoría de los SNPs analizados en las poblaciones indígenas, sugiere la participación de variantes genéticas distintas a las previamente reportadas. Por ello, se requieren estudios adicionales que permitan identificar el componente genético de riesgo para la obesidad en las poblaciones indígenas.

2. ABREVIATURAS

GWAS	Genome Wide Association Studies. Estudios de asociación del genoma completo.
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido.
IMC	Índice de Masa Corporal.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
DT2	Diabetes Tipo 2.
ATP III	Panel de tratamiento para adultos III.
SNC	Sistema Nervioso Central.
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición.
ENN	Encuesta Nacional de Nutrición.
NIH	National Institute of Health (Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos).
FTO	Proteína asociada a obesidad y masa grasa.
TMEM18	Proteína transmembranal 18.
GNPDA2	Glucosamina 6 fosfato deaminasa 2.
SEC16B	SEC16 homólogo B.
SH2B1	SH2B proteína adaptadora 1.
BDNF	Factor neurotrópico derivado del cerebro.
BCDIN3	Enzima capping metilfosfato.
PRL	Prolactina
PTER	Fosfodiesterasa
KCTD15	Canal de potasio con dominio de tetramerización tipo 15.
INSIG2	Gen inducido por insulina tipo 2.
NEGR1	Regulador de crecimiento neuronal tipo 1.
TNF-a	Factor de necrosis tumoral alfa.

MC4R	Receptor de melanocortina 4.
MAF	Homologo v-MAF oncogen fibrosarcoma muscoloaponeurotico.
FAIM2	Molécula inhibitoria de apoptosis Fas tipo 2.
NPC1	Enfermedad de Niemann Pick tipo C1.
SFRF10	Factor de splicing rico en arginina/serina 10.
MTMR9	Proteina relacionada a miotubularina 9.
MTCH2	Acarreador mitocondrial

3. INTRODUCCION

En las últimas décadas la prevalencia de obesidad ha incrementado a rangos epidémicos en la mayor parte del mundo, la OMS ha calculado que un billón de adultos presentan sobrepeso y 300 millones de ellos son considerados clínicamente obesos. En México, los datos más recientes muestran que al menos siete de cada diez individuos adultos padecen sobrepeso u obesidad (ENSANUT, 2006). Del mismo modo, los datos epidemiológicos han estimado que alrededor de 43 millones de niños tienen sobrepeso en el mundo, por lo cual hoy en día la obesidad infantil también es un grave problema de salud pública (OMS, 2011). En nuestro país la prevalencia de obesidad en niños y adolescentes es del 26% y 33% respectivamente (ENSANUT, 2006). Asimismo, la obesidad está asociada con el desarrollo de complicaciones como son la diabetes tipo 2, hipertensión, enfermedad cardiovascular, alteraciones hormonales, hígado graso no alcohólico, reflujo gastroesofágico, cálculos biliares, cáncer y un elevado riesgo de mortalidad. Además diversos estudios muestran que la obesidad infantil también conlleva a graves problemas de obesidad en la vida adulta y posiblemente sus comorbilidades (Rokholm, B., 2011; ENSANUT, 2006; OMS, 2000).

La obesidad es una enfermedad compleja resultado de la interacción entre factores genéticos, ambientales y sociales. Con respecto a los factores genéticos, no ha sido sencillo entender cómo los genes pueden influir en el desarrollo de obesidad. Sin embargo, se han logrado avances importantes en los últimos años. El empleo de tecnologías modernas de última generación aplicadas a análisis genómicos ha contribuido de forma más rápida y eficaz a la búsqueda en el genoma completo (GWAS, por sus siglas en inglés genome wide association study) de genes asociados con fenotipos obesos. Posiblemente el resultado más destacado fue el descubrimiento del gen asociado a la masa grasa (*FTO*), relacionado con un mayor índice de masa corporal (IMC) y a un mayor riesgo de obesidad. Sin embargo, en los últimos años por medio de esta misma estrategia, se han logrado evidenciar novedosos genes con réplicas positivas de asociación a obesidad en diversas poblaciones, cuya función principal está localizada a nivel de sistema nervioso central (SNC) de los cuales hoy en día aún no se tiene una idea clara de su posible participación en el desarrollo de obesidad (Rokholm, B., 2011).

3.1. DEFINICION DE OBESIDAD

La obesidad es una enfermedad crónica, multifactorial y compleja que resulta de una ingesta sostenida en el tiempo de exceso de energía en comparación con el gasto energético, lo cual lleva a un almacenamiento de cantidades excesivas de energía en forma de triglicéridos en el tejido adiposo (Herrera, B., 2010).

3.2. DIAGNÓSTICO DE OBESIDAD

3.2.1. Adultos

El diagnóstico de obesidad se establece de manera indirecta, para ello se requiere calcular el IMC, éste se calcula a través de dividir el peso expresado en kilogramos entre la estatura en metros elevados al cuadrado (kg/m^2). El IMC es fácil de calcular, económico y un criterio bien definido para el diagnóstico de la severidad de la obesidad en adultos. Sin embargo, el IMC puede sobre o subestimar el total de grasa corporal ya que no incorpora directamente la cantidad de grasa corporal o su distribución, por tanto, no refleja el grado de adiposidad o riesgos de salud asociados entre los diferentes individuos y poblaciones (García-García E, Casanueva, E., 2008; WHO, 2000; Prentice, A.M., 2001).

Según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el diagnóstico de obesidad se establece con un IMC igual o mayor a $30 \text{ kg}/\text{m}^2$ (Tabla 1). El razonamiento que dió origen a estas cortes se basó en datos epidemiológicos realizados por el Instituto de Nacional de Salud de Estados Unidos (NIH) y la OMS donde señalan los puntos de corte establecidos, basados en el riesgo de morbilidad y mortalidad (OMS, 1998). En tales datos se muestra un aumento en la mortalidad de las personas que tienen un IMC por arriba de $25 \text{ Kg}/\text{m}^2$. El aumento de la mortalidad parece ser modesto hasta que se alcanza un IMC de $30 \text{ Kg}/\text{m}^2$. Por arriba de esta cifra, la tasa de mortalidad por todas las causas y en especial la provocada por enfermedades cardiovasculares aumentan de 50 a 100% en relación a las personas que tienen un IMC de 20 a $25 \text{ Kg}/\text{m}^2$. Está bien establecido que la relación entre el IMC, la mortalidad y morbilidad en adultos responde a una curva en forma de U o de J, donde la mortalidad es mayor en ambos extremos de los valores de IMC y alcanza un índice menor en cierto valor que ha ido variando a lo largo del tiempo. En la mayoría de estudios grandes y prospectivos, con etapas largas de seguimiento, la menor morbilidad y mortalidad

en adultos se encuentra en valores de IMC entre 19 y 25 Kg/m² (OMS, 2000; Casanueva, E., 2008).

El término obesidad mórbida hace referencia a la gravedad del grado de obesidad alcanzado e incluye a todos los obesos con un IMC igual o mayor a 40 kg/m², sin importar su estado funcional; también se cataloga en ese rango a quienes tiene un IMC de 35 a 39.9 y que además presentan una o más comorbilidades (García-García E, Casanueva, E., 2008).

Tabla 1. Clasificación de Sobrepeso y Obesidad de acuerdo al IMC

Clasificación	IMC	Riesgo de Comorbilidades ^a	Riesgo de enfermedad en relación con el peso y perímetro de cintura.	
			Hombres ≤ 102 Mujeres ≤ 88	Hombres > 102 Mujeres > 88
Bajo peso	< 18.5	Bajo (con riesgo de otros problemas de salud)		
Peso normal	18.5 - 24.9	Promedio		
Pre-obeso (sobrepeso)	25 – 29.9	Medio	Aumentado	Alto
Obeso	≥ 30	Incrementado		
Grado 1	30 – 34.9	Moderado	Alto	Muy alto
Grado 2	35 – 39.9	Importante	Muy alto	Muy alto
Grado 3	≥ 40	Muy importante	Extremadamente alto	Extremadamente alto

Clasificación de Sobrepeso y Obesidad en adultos de acuerdo al Índice de Masa Corporal, según los criterios de la OMS. Los criterios de clasificación están basados en principalmente en la asociación entre IMC y mortalidad. Los valores de IMC son independientes de la edad y el género. ^aRiesgo de padecer DT2, hipertensión y enfermedad cardiovascular. Fuente: Casanueva, E., 2008)

Además de la evaluación del IMC, es útil determinar la presencia de obesidad o adiposidad abdominal o visceral mediante la medición del perímetro de cintura, debido a que la circunferencia de cintura es una medida conveniente y simple la cual no está relacionada con la talla, correlaciona fuertemente con el IMC y es un índice aproximado de masa grasa intra-abdominal y grasa corporal total. Recientemente, se ha acumulado evidencia de que la obesidad abdominal, independientemente de la grasa corporal total, se encuentra directamente relacionada con parámetros metabólicos asociados con enfermedades metabólicas. Por tanto, cambios en la circunferencia de cintura reflejan cambios en los factores de riesgo para enfermedad cardiovascular y otras formas de enfermedades crónicas. El punto de corte sugerido para los hispanoamericanos por la Federación Internacional de Diabetes en el 2006 es de ≥ 90 centímetros en hombres y 80 centímetros en

mujeres. Así mismo, se han definido otros criterios como el propuesto en el 2002 por la ATP III (Adult Treatment Panel III), que proponen puntos de corte de 102 centímetros para hombres y 88 centímetros para mujeres. Cabe señalar que la edad y el género están asociados con diferencias en obesidad y composición corporal, por ejemplo, las mujeres tienden a almacenar mayor cantidad de grasa en el tejido adiposo subcutáneo en lugar del visceral, así que con el mismo IMC, las mujeres tienden a tener más grasa corporal que los hombres. La distribución de grasa corporal sigue dos patrones generales, el androide (depósito de tejido adiposo en el área abdominal) y el ginecoide (depósito de tejido adiposo alrededor de las caderas). La distribución de grasa androide es un factor de riesgo independiente establecido para enfermedad cerebrovascular y DT2, en tanto el patrón ginecoide se piensa es protector. Para tomar en cuenta esas diferencias en la distribución de grasa la relación cintura/cadera ($C/C = \text{circunferencia de cintura} / \text{circunferencia de cadera}$) también es un parámetro utilizado comúnmente ya que correlaciona con el IMC. Valores superiores al percentil 90 de este cociente en la población estudiada representan un riesgo importante para la salud. En la actualidad existe una tendencia a utilizar sólo la circunferencia de cintura, ya que es un valor más importante que el de la cadera para valorar el riesgo de la acumulación central de la grasa (Aronne, L.J., 2002; Wiklund, P., 2008; Lindgren, C.M., 2009; Barbani, C., 2006).

3.2.2. Niños

En niños y adolescentes el proceso de crecimiento y los cambios en la composición corporal a lo largo del tiempo hace más complicada la elección de un sistema de clasificación de sobrepeso y obesidad, debido a las diferencias entre poblaciones, la utilización del IMC en niños se complica por la diferente relación entre el peso y la talla en función de su género, edad, estado puberal y etnia, que podrían estar influyendo en los cambios relacionados con el crecimiento y desarrollo. Por tanto es necesaria la utilización de tablas de referencia. En México, se utilizan las tablas de percentiles difundidas en el 2000 por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (Centers for Disease Control and Prevention, CDC); sin embargo, los datos de la población con las que fueron elaboradas no representan fielmente el crecimiento de los niños mexicanos (Fuchs A., 2005; Serralde-Zuñiga, A.E., 2010; Calzada R, 2004). A pesar de ello, los puntos de corte establecidos por la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, a partir de las características de la población Mexicana de 2 a 18 años de edad son los mismos en los que se basa la CDC (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación de Sobrepeso y Obesidad en Niños.

Percentil	Clasificación
Percentil 5 a <Percentil 75	Peso saludable
Percentil 75	Sobrepeso
Percentil 85	Obesidad
Percentil 95	Obesidad Extrema

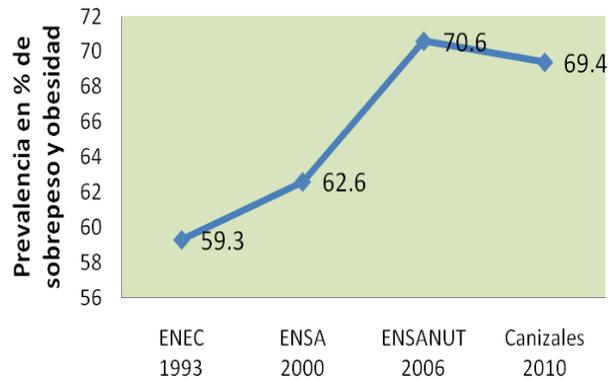
Clasificación de Sobrepeso y Obesidad en población infantil de acuerdo al los percentiles de curvas de IMC-sexo-edad de la CDC. Fuente: Serralde-Zuñiga, A.E., 2010.

3.3. PREVALENCIA

3.3.1. Adultos

La prevalencia de obesidad se ha incrementado en proporciones alarmantes alrededor del mundo durante las últimas décadas. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) se ha estimado que un billón de adultos presentan sobrepeso y 300 millones de ellos son considerados clínicamente obesos, por lo cual en el año de 1998 la obesidad fue catalogada como una epidemia mundial. Actualmente, la obesidad constituye uno de los mayores problemas de salud pública en el mundo. En México, según datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006 (ENSANUT 2006) se calcula que 69.3% de los adultos tienen sobrepeso u obesidad, mostrando un incremento en la prevalencia de 8.3% respecto a los datos de la Encuesta Nacional de Nutrición (ENN) 1999 (61%). Al comparar con las encuestas previas se observó con respecto a la prevalencia de obesidad, que la población adulta fue la que mostró un porcentaje de incremento más importante en relación a la de sobrepeso ya que del año 2000 al 2006 se mostró un incremento de 24.7% (25.1%-31.3%). Así mismo, la ENSANUT 2006 mostró que la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad es ligeramente mayor en mujeres (71.9%) que en hombres (66.7%) (ENSANUT, 2006; ENN 1999; OMS,2010).

Grafica 1. Prevalencia de Sobrepeso y Obesidad en México reportada en la encuestas nacionales de salud del año de 1993 al 2006.



Incremento en la prevalencia de Sobrepeso de Obesidad en México registrada en las encuestas nacionales de salud desde el año 1993 hasta el 2006. Así mismo, también se reporta la encontrada en una cohorte de población adulta del D.F. en el año 2010. Fuente: ENEC, 1993; ENSA, 2000, ENSANUT, 2006; Canizales, 2010.

3.3.2. Niños

Para la población de niños y adolescentes, la OMS calculó que 22 millones de niños menores de 5 años tienen sobrepeso y 155 millones de niños y adolescentes de entre 5 y 17 años también lo padecen; de éstos, 2 a 3% padecen obesidad. Así mismo, se ha determinado que 3 de cada 4 niños o adolescentes en esta situación viven en países en desarrollo, principalmente del continente americano. Por otra parte, ya que la mayoría de esos niños podrían presentar sobrepeso u obesidad en la edad adulta, los pronósticos son poco optimistas. Si las tendencias recientes se mantienen, para el año 2030 las cifras absolutas podrían incrementarse a un total de 2.16 billones de individuos adultos con sobrepeso y 1.12 billones con obesidad, lo que corresponde al 38% y 20% de la población mundial, respectivamente (Serralde-Zuñiga, A.E., OMS, 2010; Kelly, T., 2005).

En México, 26% de los niños y niñas de 5 a 11 años de edad tienen sobrepeso u obesidad. Cuando se comparan los datos de la ENSANUT 2006 con los de la ENN 1999, se observa un notable incremento en la prevalencia de sobrepeso y obesidad. En el lapso de 7 años el sobrepeso en niños de 5 a 11 años de edad aumento 41% (de 12.9% a 21.2%) y la obesidad, 77% (de 5.3% a 9.4%); en las niñas de este mismo intervalo de edad, el sobrepeso aumento 27% (de 12.6% a 21.8%) y la obesidad incremento 47% (de 5.9% a 8.7%). En el grupo de niñas y adolescentes de 12 a 19 años de edad ocurrió un fenómeno similar, pues la prevalencia de sobrepeso creció 7.8% (de 21.6% a 23.3%), y la de obesidad,

33.3% (de 6.9% a 9.2%), para el sexo masculino no hay datos de la ENN 1999 (ENSANUT, 2006; ENN 1999).

3.4. FISIOPATOLOGÍA

Entre los posibles mecanismos implicados en el desarrollo de obesidad se encuentran los siguientes:

- Biología del equilibrio energético.
- Los sistemas biológicos que regulan el hambre y la saciedad.
- La interacción con el ambiente de los sistemas neuroendocrinos que regulan la adiposidad.
- Los factores psicológicos que determinan la conducta alimentaria.
- El papel de la actividad física.
- El papel del estrés.
- La susceptibilidad genética.
- Los factores sociales, económicos psicológicos, educativos y culturales que determinan la forma de comer además de la actividad física.

Los conocimientos proporcionados por la investigación en genética han llevado al desarrollo de teorías para explicar las bases fisiológicas de la obesidad. Esas teorías se sobrelapan substancialmente y es el énfasis en la función en papeles clave de tejidos específicos o sistemas lo que las diferencia (Walley, A., 2009).

3.4.1. Obesidad como un desorden del metabolismo energético

La obesidad ha sido vista durante mucho tiempo como una alteración del balance energético, siendo el resultado del exceso crónico en la ingesta energética o la disminución del gasto energético, se han encontrado cuatro parámetros metabólicos posiblemente predictivos de ganancia de peso como son: baja tasa metabólica, baja actividad física, disminución en la actividad del sistema nervioso simpático y baja oxidación del tejido adiposo (Walley, A., 2009; Galgani, J., 2008).

3.4.2. Obesidad como un desorden del adipocito

La obesidad resulta de una alteración en el balance energético. La relación a largo plazo entre la ingesta energética, gasto energético, utilización de nutrientes y adipogénesis determina la cantidad de energía almacenada. La obesidad se presenta cuando la ingesta energética excede de manera crónica el gasto energético y cuando la distribución de energía favorece al almacenamiento de lípidos y oxidación de carbohidratos. El tejido adiposo es el principal depósito de almacenamiento de lípidos, y es de vital importancia en la amortiguación de la afluencia diaria de lípidos dietarios a la circulación. Este órgano ejerce su función amortiguadora suprimiendo la liberación de ácidos grasos no esterificados a la circulación e incrementando el aclaramiento de triacilglicerol. En la obesidad, el tejido adiposo se encuentra sobrecargado con triacilglicéridos y su capacidad amortiguadora para el almacenamiento de lípidos en los adipocitos se encuentra reducida, especialmente en un estado posprandial. La reserva de triglicéridos en los adipocitos de sujetos obesos alcanza un máximo nivel y por tanto esos adipocitos no son capaces de almacenar más lípidos. Consecuentemente, los tejidos no adiposos son expuestos a una afluencia excesiva de triacilglicéridos y ácidos grasos, lo cual puede conducir a su acumulación cuando la capacidad de oxidar ácidos grasos no es suficiente. Así mismo, El incremento en la masa grasa se manifiesta ya sea como un incremento en el contenido de lípidos intracelulares y mayor tamaño de los adipocitos (hipertrofia) o incremento en el número de adipocitos (hiperplasia). La hipertrofia de los adipocitos fue considerada la única ruta por la cual la masa del tejido adiposo se incrementa en los adultos. Sin embargo, ahora se sabe que la hiperplasia de los adipocitos (adipogénesis) también contribuye al incremento de la masa del tejido adiposo en la obesidad. En un trabajo reciente, se estableció que la población de adipocitos incrementa constantemente a lo largo de la niñez y la adolescencia independientemente del peso. Además el número de adipocitos es regulado a un número constante durante la edad adulta (aunque es numéricamente neutral el recambio de ~10% de células en la población celular) (Spalding, K. L., 2008). Así mismo en otro reporte encontraron que la población de adipocitos empieza a incrementarse en edades tempranas e involucra un aumento significativo en el número de adipocitos en personas con obesidad de inicio temprano resultando en un gran número de adipocitos al llegar a la edad adulta, lo anterior explicaría porque cerca del 75% de niños obesos llegan a ser adultos obesos, en tanto solo 10% de niños con peso adecuado llegan a ser obesos en la edad adulta (Freedman, D.S., 2007). Estudios en modelos animales sugieren que la hiperplasia ocurre en

dos pasos: incremento en el número de preadipocitos y diferenciación de preadipocitos en adipocitos maduros (secretores de adipocitocinas). Los factores que regulan la hipertrofia e hiperplasia del tejido adiposo no se han dilucidado completamente, pero tanto los niveles circulantes de insulina como de glucocorticoides parecen estimular la diferenciación de preadipocitos. Estudios in vitro sugieren que factores liberados localmente por adipocitos hipertróficos tales como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1), estimulan la hiperplasia de una manera paracrina. La hormona de crecimiento y tiroxina también parecen jugar un papel en este proceso. Así mismo, varios factores de transcripción influyen la diferenciación de preadipocitos; el receptor activado de peroxisomas gamma (PPAR- γ) es uno de los receptores nucleares más importantes, ya que estimula la hiperplasia de los adipocitos y puede conducir a una redistribución de los triglicéridos intracelulares (disminución del tamaño de los adipocitos). Algunos experimentos en modelos animales sugieren que la hiperplasia de los adipocitos puede ocurrir después de la hipertrofia y se asocian con mayor severidad y menor reversibilidad de las consecuencias metabólicas. La hipertrofia o hiperplasia puede variar en función de la localización del tejido adiposo. Por ejemplo, mujeres con mayor masa grasa subcutánea muestran tanto hipertrofia como hiperplasia del adipocito, en tanto el incremento de grasa visceral fue debido principalmente a hipertrofia. Se ha sugerido que los depósitos de grasa subcutánea se producen al inicio del desarrollo de obesidad, y la acumulación de grasa visceral ocurre después de que la capacidad de grasa subcutánea ha sido alcanzada. Así mismo, se ha sugerido que el exceso de tejido adiposo subcutáneo tiene menores efectos adversos sobre la salud que el exceso de tejido adiposo visceral. En humanos, el tejido adiposo visceral mostró mayor acumulación de macrófagos y una mayor expresión del factor inflamatorio de la proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1), así mismo, la expresión de MCP-1 correlaciona con circunferencia de cintura y posiblemente resistencia a la insulina. Por lo anterior, los cambios asociados a la hipertrofia del adipocito parecen ser el primer paso hacia la disfunción celular del adipocito (Ferranti, S., 2008).

3.4.3. Obesidad como un desorden Neuroconductual

Recientemente ha surgido la visión de la obesidad como un desorden neuroconductual, con defectos en el control neurológico del apetito y la ingesta de alimentos, que juegan parte central en su patogénesis. Esta visión ha sido confirmada por el hecho de que la mayoría de las mutaciones en genes involucrados en el control del apetito (ruta leptina-melanocortina) resultan en obesidad monogénica (Walley, A., 2009).

El control del balance energético involucra la integración de señales de saciedad del tracto gastrointestinal, tejido adiposo y señales relacionadas con nutrientes. En respuesta a la ingesta de alimentos, el intestino libera colecistoquinina y péptido YY que inhiben la ingesta de alimentos a través de mediadores de saciedad. En contraste a esos péptidos, el estomago secreta grelina en respuesta al ayuno para estimular el apetito. Las señales del tejido adiposo proveen información de retroalimentación de las reservas energéticas corporales al cerebro que son mediadas por hormonas circulantes como la leptina (producida por los adipocitos) y la insulina pancreática. La leptina circula a niveles proporcionales a las reservas de grasa corporal, de tal modo que altas concentraciones en plasma inhiben el apetito. En contraste, cuando la alimentación es insuficiente, los niveles de leptina disminuyen lo cual activa la ruta estimulante del apetito en el hipotálamo por medio de su unión a receptores de leptina (van Vliet-Ostaptchouk, J.V., 2009)

Hay dos diferentes poblaciones neuronales en el núcleo arcuato del hipotálamo que detectan múltiples señales periféricas; las neuronas orexigenicas o estimulantes del apetito, las cuales producen el neuropeptido Y (NPY) y la proteína relacionada agouti (AGPR), las cuales estimulan la ingesta de alimentos bajo condiciones de perdida de peso y ayuno, por otra parte, las neuronas anorexigenicas o supresoras del apetito que actúan por medio de la propiomelanocortina (POMC) la cual suprime la ingesta de alimentos por medio de la secreción de la hormona estimulante de alfa-melanocitos y el transcrito regulado por anfetaminas y cocaína (CART) el cual, también es estimulado bajo condiciones de balance positivo de energía. Las neuronas NPY/AGPR tienen un efecto inhibitorio en la actividad de las células POMC/CART mediado por el acido gama-aminobutirico. Ambos grupos neuronales expresan muchos receptores para señales de salida del sistema periférico. Esas señales transmitidas vía CCK, péptidos YY, leptina e insulina suprimen la activación de las neuronas NPY/AGPR y cambian la ruta anorexigenica mediada por neuronas POMC/CART, conduciendo a la reducción de la ingesta de alimentos. Las señales de las neuronas del núcleo arcuato son enviadas a neuronas de segundo orden las cuales incluyen a los receptores de melanocortina (MC3R y MC4R) y a otras regiones del hipotálamo como el núcleo paraventricular (PVN) y el área hipotálmica lateral (LHA). Especialmente MC4R es importante en el control del balance energético debido a que su función principal es la disminución de la ingesta energética y el incremento en la tasa metabólica. (McPherson, R. 2007; van Vliet-Ostaptchouk, J.V., 2009).

3.5. COMORBILIDADES

La epidemia de obesidad es un serio problema de salud pública. Un IMC alto ha sido asociado con mortalidad prematura. En un estudio, que incluyó hombres y mujeres no fumadores con obesidad a la edad de 40 años estos murieron 6 a 7 años antes que aquellos sujetos no obesos. Así mismo, la obesidad ha sido asociada a diversas alteraciones entre ellas las más importantes son hipertensión, dislipidemia, resistencia a la insulina y DT2 debido a que son consideradas las principales causas de morbimortalidad en nuestro país (Tabla 3) (Canoy, D., 2007; secretaria de salud; Peeters, A., 2003).

La relación de la obesidad con otras enfermedades parece estar centrada en la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina (DT2, hipertensión, enfermedades cardiovasculares, dislipidemias e hígado graso no alcohólico). La obesidad también se ha asociado con carcinoma de ovario y endometrio, úlcera péptica y con problemas psicológicos. En estos casos parece ser que el punto de unión está en el desbalance de las hormonas estrogénicas y androgénicas, el cortisol y el manejo defectuoso de situaciones de estrés.

3.5.1. Obesidad y Resistencia a la Insulina

Tanto los ácidos grasos libres como TNF-a, son secretados en altas concentraciones en adipocitos hipertróficos y juegan un papel prominente en el desarrollo de resistencia a la insulina. Debido a que la insulina es el principal regulador de la lipasa sensible a hormona, controla las enzimas para la hidrólisis de triglicéridos, además del efecto inhibitorio de los ácidos grasos libres en la sensibilidad a la insulina lleva a una lipólisis incrementada en los adipocitos. Este efecto es aumentado por la sobre regulación de la hidrólisis de triglicéridos por TNF-a en tejido adiposo, además, TNF-a también contribuye a la resistencia a la insulina inhibiendo la expresión de genes esenciales para la señalización de la insulina y la diferenciación del adipocito proporcionando otra base molecular para la resistencia a la insulina. Adiponectina incrementa la sensibilidad a la insulina inhibiendo la producción de glucosa hepática e incrementando la oxidación de ácidos grasos en el hígado y el músculo, esto como resultado de la mejoría en la actividad de la proteína cinasa activada por 5-AMP.

Tabla 3. Principales Comorbilidades Asociadas a la Obesidad

Cardiovasculares	Presión sanguínea elevada
-------------------------	----------------------------------

	Aterosclerosis
	Hipertrofia Ventricular
	Insuficiencia cardiaca
	Insuficiencia venosa
	Enfermedad coronaria
Endocrinológicas	Resistencia a la insulina
	Diabetes Tipo 2
	Síndrome de ovario poliquístico
	Síndrome metabólico
	Hipogonadismo
	Dislipidemias
	Artritis gotosa
Gastrointestinales	Reflujo gastroesofágico
	Diverticulosis
	Cálculos biliares
	Esteatohepatitis no alcohólica
	Hernias
Neurológicas	Enfermedad vascular cerebral
	Deterioro cognitivo
	Compresión radicular
Musculo esqueléticas	Osteoartritis
	Inmovilidad
	Lumbalgia
Psicosociales	Depresión (autoestima baja)
Pulmonares	Apnea del sueño obstructiva
	Disnea
	Embolismo pulmonar
	Síndrome de hipoventilación
Renales	Proteinuria
	Disminución de la natüresis
Dermatológicas	Acanthosis nigricans
	Micosis
	Celulitis
Neoplasias	Mama
	Colon

Fuente:

3.6. ETIOLOGIA (FACTORES DE RIESGO)

La obesidad es una alteración multifactorial que involucra una compleja interacción entre factores genéticos, hormonales, ambientales y biológicos. La susceptibilidad a la obesidad está parcialmente determinada por factores genéticos, pero un ambiente obesogenico es necesario para su expresión fenotípica. Hay una relación sinérgica entre genes y ambiente: en presencia de una predisposición genética a obesidad, la severidad de la enfermedad está considerablemente determinada por las condiciones ambientales y del estilo de vida. Cuando individuos que viven en un ambiente restrictivo evolucionan a un ambiente obesogenico, tal como el encontrado en ciudades industrializadas tienen más probabilidad de ganar peso. Sin

embargo, aquellos con una alta predisposición genética para la obesidad pueden ganar mayor peso corporal, en tanto aquellos genéticamente resistentes a la obesidad pueden ganar menos o nada de peso corporal. Un ejemplo de esta interacción gen-ambiente puede ser el representado por una población aparentemente predispuesta a obesidad y DT2, tal como los Indios Pima. Los Indios Pima que viven en un ambiente restrictivo de las montañas de la Sierra Madre Mexicana tienen mucho menor prevalencia de obesidad y DT2 que aquellos que viven en un ambiente obesogénico de Arizona, en el suroeste de los Estados Unidos (Loos, R.J.F., 2003).



3.6.1. Factores Ambientales

El aumento en la prevalencia de obesidad observado en las diversas poblaciones en los últimos años se ha propiciado por cambios en el ambiente que condicionan a un mayor aporte energético, así como a la disminución de la actividad física o un estilo de vida sedentario. Considerando que el fondo genético ha permanecido relativamente constante durante las últimas décadas, la tendencia del incremento en la prevalencia de obesidad probablemente se deba a la interacción entre factores del estilo de vida moderno que actúan en una base genética que determina la susceptibilidad a ganar peso y a la obesidad (Hernández -Jiménez, S., 2004; Korner, A., 2008).

3.6.2. Factores Genéticos

3.6.2.1. Obesidad Monogénica y Poligénica

La obesidad es clasificada comúnmente en subgrupos dependiendo la etiología: obesidad monogénica (obesidad extremadamente severa en ausencia de retraso del desarrollo), obesidad sindrómica (sujetos obesos clínicamente distinguidos por retraso mental, características dismórficas y anormalidades del desarrollo órgano-específicos), y obesidad poligénica o común, la cual afecta a la población general (en la cual se conjuntan factores de riesgo genéticos y ambientales).

3.6.2.1.1. Obesidad monogénica

El primer defecto en un solo gen como causa de obesidad monogénica fue descrito en 1997, y a la fecha hay cerca de 20 alteraciones de un solo gen que resultan en formas autosómicas de obesidad. Interesantemente, todas esas mutaciones posicionan a la ruta leptina/melanocortina en el sistema nervioso central, como un mecanismo crítico en la regulación de la homeostasis energética. En la mayoría de estos casos, la obesidad parece ser resultado del incremento del apetito y disminución de la saciedad. La obesidad sindrómica surge de defectos genéticos discretos o anormalidades cromosómicas en varios genes y puede ser autosómica o ligada al cromosoma X. Una de las formas más conocidas de obesidad sindrómica es el síndrome de Prader-Willi, el cual es causado por una anormalidad cromosómica de la región q11-q12 del cromosoma 15. El síndrome de Prader-Willi está caracterizado por obesidad de inicio temprano resultado de la hiperfagia causada por disfunción del sistema nervioso central (SNC). Debido a que ambas formas de obesidad monogénica y sindrómica tienen alta penetrancia, la detección de variantes genéticas causales ha sido muy exitosa.

3.6.2.1.2. Obesidad poligénica

Por otra parte, la obesidad poligénica o común se produce cuando el componente genético de un individuo, el cual está determinado por la presencia simultánea de variantes de secuencia de DNA como son los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en múltiples genes, aumenta la susceptibilidad a un ambiente que promueve el consumo de energía superior respecto a el gasto energético, por lo anterior la identificación de genes de susceptibilidad a obesidad común no ha sido una tarea fácil ya que hay un gran número de

genes con un efecto pequeño sobre el fenotipo de obesidad (O’Rahilly, S., 2009; Herrera, B.M., 2010; Mutch, D.M., 2006).

3.6.2.2. Heredabilidad

El principal factor de riesgo para la obesidad en niños y adolescentes es la presencia de obesidad en los padres, el riesgo es particularmente elevado si ambos padres son obesos. Algunos estudios han encontrado un efecto más fuerte de la obesidad materna que de la paterna, lo cual puede reflejar los factores ambientales pre y postnatales y los mecanismos genéticos dependientes del género. Por otra parte, se ha reportado que la ganancia de peso materno en el embarazo está correlacionada positivamente con el IMC de los niños en la edad adulta (Reilly, J.J., 2005; Mamun, A.A., 2009; Hinney, A., 2010).

Estudios en gemelos, así como estudios de adopción y familias sugieren que el fuerte valor predictivo del IMC de los padres, se debe principalmente a la participación de factores genéticos más que a factores ambientales. Así mismo, estudios epidemiológicos de obesidad común han demostrado que la concordancia para la obesidad disminuye en paralelo con la disminución del grado de parentesco. Por ejemplo, la tasa de concordancia entre gemelos monocigóticos es más del doble comparada con la de los pares dicigóticos (0.68 vs 0.28). Así los estudios en gemelos, familias y de adopción han revelado que entre el 60 y 90% de la variación en el IMC en una población puede deberse a efectos genéticos. En un estudio relativamente pequeño de gemelos criados por separado, los estimados de heredabilidad resultaron ser similares a aquellos donde los gemelos fueron criados juntos. De igual manera, en los estudios de adopción, el IMC de la persona adoptada correlaciona significativamente con el IMC de los padres biológicos, lo cual subraya el papel de los factores genéticos sobre el medio ambiente familiar compartido. En conjunto diferentes estudios muestran que la heredabilidad calculada para el IMC va de un rango del 40 al 85%, para la circunferencia de cintura del 37 al 81%, para el índice cintura cadera del 6 al 30% y para el porcentaje de grasa corporal del 35 al 63%. Sin embargo, la exposición a un ambiente propicio para la obesidad es necesaria para su desarrollo. Al respecto una de las hipótesis más aceptadas es la del genotipo ahorrador, la cual sugiere que los genes seleccionados debido a que proporcionaron una ventaja evolutiva al permitir la máxima eficiencia de almacenamiento de nutrientes en épocas de hambruna ahora al ser expuestos a grandes cantidad de alimento, pueden estar ejerciendo el mismo efecto favorable para la acumulación de tejido adiposo y por consecuencia la obesidad. Lo anterior explica el por qué

la mayoría de sujetos parecen tener alguna combinación de genes de susceptibilidad a obesidad, en tanto el resto son relativamente resistentes al sobrepeso y obesidad a pesar de vivir en el mismo ambiente obesogénico (Bellisari, A. 2007; Herrera, B.M., 2010; Hinney, A., 2010; Ramachandrapa, S., 2011).

Por otro lado, la edad es un factor que puede afectar los estimados de heredabilidad del IMC. En dos estudios independientes de gemelos se estimó una heredabilidad del peso al nacimiento substancialmente baja (0.4). El ambiente intrauterino tiene una fuerte influencia sobre el peso al nacimiento. Se sabe que, especialmente para gemelos monocigóticos, otras medidas antropométricas como la talla, también correlacionan menos al nacimiento que en la niñez. Un reciente estudio incluyendo una muestra longitudinal de más de 3,500 pares de gemelos mostró que la influencia genética en el IMC actúa de manera progresiva durante el desarrollo de un individuo. Estimados de heredabilidad demuestran un incremento de 0.48 a la edad de 4 años a 0.78 a la edad de 11. Sin embargo, se necesita ser cauteloso con la interpretación de este tipo de estudios ya que frecuentemente subestiman los efectos ambientales compartidos y tienden a sobreestimar los efectos genéticos dominantes (Dubois, L., 2007; Haworth, C.M., 2008; Silventoinen, K., 2007; Rokholm, B., 2011;).

3.6.2.3. Estrategias para la identificación de genes de susceptibilidad a obesidad.

Hay numerosas estrategias para identificar los determinantes genéticos de desórdenes complejos. Los métodos comúnmente usados en genética de obesidad incluyen estudios de escaneos del genoma o ligamiento, análisis de genes candidatos y estudios de asociación del genoma completo.

3.6.2.3.1. Análisis de Ligamiento del genoma

Esta estrategia es utilizada para identificar *loci* que contienen genes que influyen el fenotipo o rasgo de interés basados en el supuesto de que las variantes que se relacionan con la enfermedad co-segregan en familias a través de las generaciones. Este método involucra la genotipificación de 400-600 marcadores altamente polimórficos posicionados a través del genoma completo a intervalos de 1-10 centimorgans en un gran número de individuos relacionados. Esta estrategia ha sido exitosamente utilizada para mapeo de *loci* o genes causales de enfermedades monogénicas debido a la alta penetrancia de las variantes causales de la enfermedad (Dawn Teare, M., 2005).

Desde que el primer estudio de ligamiento del genoma completo fue publicado en 1997, el número de *loci* cromosómicos ligados a rasgos relacionados a obesidad se ha incrementado exponencialmente. La última actualización del mapa genético de la obesidad humana reportó 253 *loci* distribuidos en todos los cromosomas excepto en el cromosoma Y, correspondientes a 61 estudios de ligamiento, de los cuales 15 *loci* han sido replicados en al menos 3 estudios (*loci* en cromosomas 2p, 3q, 5p, 6p, 7q, 10p, 11q, 17p and 20q). A la fecha ninguno de los *loci* replicados se ha reducido lo suficiente como para identificar los genes o variantes causales de la señal de ligamiento. A pesar del poder substancial, un metanálisis de 37 estudios de ligamiento con datos de >31,000 individuos de 10000 familias de origen europeo no pudo localizar un *locus* de obesidad o IMC que mostrara evidencias convincentes de ligamiento. Este meta-análisis indica que los estudios de ligamiento no pueden ser una herramienta efectiva para la identificación de variantes genéticas que contribuyen a la obesidad común o que pudieran ser genes específicos de familias o grupos étnicos (Loos, R.J.F., 2009; Rankinen, T., 2006; Saunders, C.L., 2007).

3.6.2.3.2. Estudios de asociación de genes candidatos

Este método es muy sencillo ya que tiene por objetivo buscar la asociación entre una variante génica particular y una enfermedad o rasgo, asumiendo que una variante causal es más frecuente en individuos con la enfermedad que en aquellos que no la tienen o viceversa. Estos estudios pueden ser de dos tipos: a) genes candidatos causales, estos se basan en la comprensión actual de la biología y la fisiopatología que subyace al desarrollo de obesidad. Para estos genes existe evidencia de su papel en la regulación del balance energético, termogénesis, adipogénesis, transducción de la señalización leptina-insulina y péptidos de señalización hormonal en modelos animales o en formas monogénicas/extremas de obesidad y b) genes candidatos posicionales previamente identificados a través de escrutinios del genoma completo (Cordell, H.J., 2005;).

Desde que se realizó el primer estudio de genes candidatos y rasgos relacionados a obesidad, aproximadamente hace 15 años, el número de genes de susceptibilidad a obesidad propuestos se ha incrementado significativamente, la última actualización del mapa genético de obesidad humana reportó 127 genes candidatos para los cuales al menos un estudio reportó asociación positiva con obesidad. Sin embargo, para muchos de los genes candidatos propuestos, su replicación en estudios posteriores ha sido inconsistente, de modo que solo 22 genes están respaldados por al menos 5 estudios de asociación positiva y solo

12 genes tienen más de 10 réplicas. Entre esos genes se encuentran genes involucrados en la regulación del gasto energético y metabolismo de lípidos y tejido adiposo (*PPARG*, *ADRB3*, *ADRB2*, *GNB3*, *UCP3*, *ADIPOQ*, *UCP2*, *NR3C1*, *UCP1*) así como genes involucrados en la regulación de la ingesta (*LEPR*, *LEP*, *HTR2C*) (Rankinen, T., 2006). El éxito limitado de los estudios de genes candidatos puede deberse a principalmente a los tamaños reducidos de muestra de estudio ($n < 1000$), por consiguiente tienen un poder estadístico insuficiente para identificar efectos modestos esperados para la obesidad común. Sin embargo, en los últimos años se ha observado un incremento en el número de estudios de asociación de genes candidatos en poblaciones grandes ($n > 5000$), así como meta-análisis de los datos publicados disponibles. De la lista de genes anteriormente mencionada solo *ADRB3* fue confirmado en un meta-análisis a gran escala de 97 estudios incluyendo casi 45,000 individuos, así la variante Trp64Arg del gen *ADRB3* fue encontrada asociada con IMC en asiáticos, pero no en europeos. También otros tres genes *BDNF*, *MC4R*, *PSCK1* han sido fuertemente asociados con obesidad en estudios de meta-análisis a gran escala. Interesantemente mutaciones en esos genes también se sabe que causan obesidad severa de inicio temprano.

3.6.2.3.3. Estudios de asociación del genoma completo (GWAS)

El objetivo de los GWAS es identificar *loci* o genes no descritos previamente, asociados a una enfermedad o rasgo de interés y, por tanto, ampliar nuestra comprensión de la fisiopatología subyacente. Los estudios de asociación del genoma completo buscan en la totalidad del genoma a niveles de resolución más alta que los estudios de ligamiento y por tanto son capaces de localizar con mayor exactitud el locus asociado a la enfermedad. El fundamento de los estudios de GWAS es el HapMap, un proyecto internacional encaminado a definir el rango de variación genética común en el genoma humano. Mediante la utilización de la información obtenida en este mapa de los SNPs y patrones de desequilibrio de ligamiento, se han desarrollado diversas plataformas para el análisis a gran escala de cientos de miles de SNPs en miles de sujetos. A diferencia de los estudios de genes candidatos, los GWAS tienen un enfoque libre de hipótesis, buscando identificar nuevas variantes genéticas asociadas con una enfermedad o rasgo de interés. Por lo general se utiliza un diseño de estudio de casos y controles para aumentar las posibilidades de reclutar a un gran número de sujetos, incrementando así el poder estadístico. Las limitaciones potenciales de los GWAS se basan en la consideración de la hipótesis de que variantes comunes son causa de enfermedades comunes en lugar de variantes raras, lo cual se ha

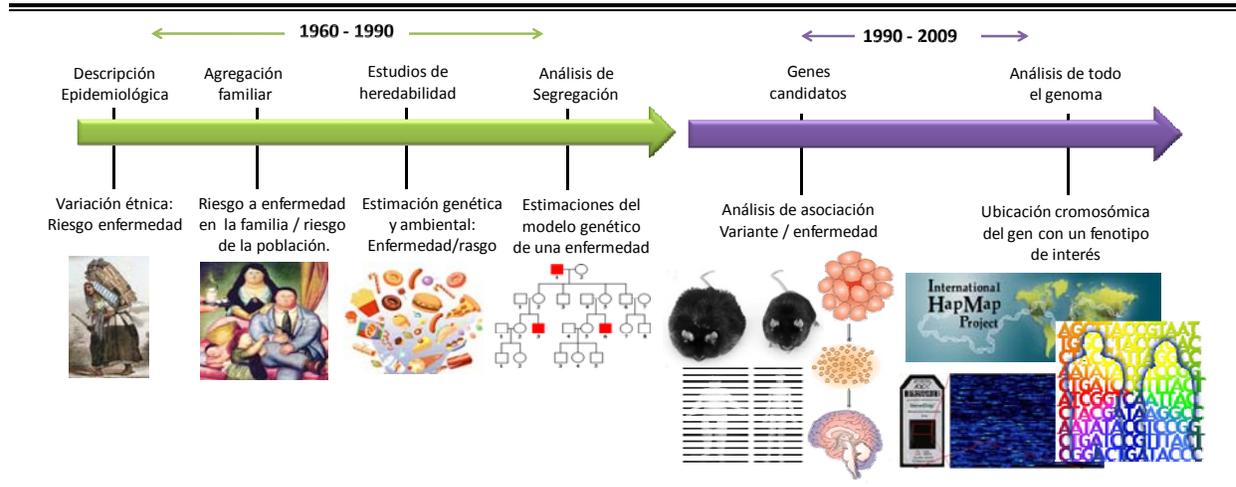
puesto en duda recientemente. Sin embargo, esto no niega el hecho de que el enfoque GWAS ha sido exitoso para la identificación de nuevas variantes de ADN asociadas a enfermedades complejas comunes como la obesidad (Walley, A.J., 2009; Loos, R., 2009).

Estos estudios han llevado a una rápida expansión en el número de *loci* implicados en la predisposición de varias enfermedades poligénicas, incluyendo a la obesidad. La mayoría de los estudios han probado la asociación con IMC como rasgo continuo. El IMC es considerado una buena medida aunque aproximada de adiposidad en adultos, la cual es fácil de obtener y disponible en muchos estudios. Otros han examinado asociación con obesidad extrema, bajo el supuesto de que los individuos obesos mórbidos pueden tener un mayor riesgo genético de predisposición a obesidad. Estos estudios han sido llevados a cabo predominantemente en individuos de origen europeo. Los primeros estudios de GWAS para obesidad se realizaron en años recientes tal es el caso de 3 estudios de asociación del genoma completo de alta densidad, cada uno confirmó el descubrimiento más importante en genética de obesidad hasta el momento, el gen *FTO* como el primer gen indiscutiblemente asociado con obesidad común. Cada uno de los 3 estudios examinó un rasgo diferente, sin embargo todos identificaron el mismo locus, reflejando la importancia de la observación. El primer estudio fue un estudio de GWA para DT2. Identificando un cluster de SNPs en el primer intrón de *FTO* que fue asociado significativamente a DT2. Sin embargo, después de ajustar por IMC, la asociación con DT2 fue completamente eliminada, indicando que la asociación de *FTO* con DT2 fue mediada a través del IMC. Subsecuentemente el efecto de *FTO* en el IMC ha sido replicado en múltiples poblaciones de diferentes grupos étnicos, así como en todas las publicaciones recientes de GWAS para obesidad. La frecuencia de la variante de riesgo de *FTO* es alta en poblaciones de origen europeo; 63% portan al menos un alelo de riesgo y 16% son homocigotos. El riesgo atribuible para este gen en el desarrollo de la obesidad es alto, siendo de casi un 20% y para el sobrepeso aproximadamente del 13%, sin embargo las variantes de *FTO* explican solo cerca del 1% de la variabilidad del IMC (Loos, R.J., 2009; Walley, A.J., 2009; Frayling T.M., 2007; Loos, R.J., 2008).

En estudios posteriores de asociación del genoma completo, se han identificado cerca de 20 genes o *loci* que influyen la variación del peso corporal (*BDNF*, *ETV5*, *FTO*, *GNPDA2*, *INSIG2*, *KCTD15*, *MC4R*, *NEGR1*, *NPC1*, *PTER*, *SH2B1*, *TMEM18*). De manera interesante, la mayoría de los *loci* asociados son expresados principalmente en el cerebro (particularmente en el hipotálamo), sugiriendo una función predominante para genes involucrados en la regulación del balance energético sobre aquellos involucrados en el

metabolismo. Entre ellos se identificaron 6 nuevos *loci* relevantes para IMC en un meta-análisis de 15 GWAS realizados en cohortes de origen europeo en o cerca de los genes *TMEM18*, *KCTD15*, *GNPDA2*, *SH2B1*, *MTCH2* y *NEGR1*. En paralelo un análisis combinado de 34,416 individuos de descendencia tanto europea como africana revelaron alrededor de 11 regiones con asociación significativa a obesidad en o cerca de los genes *FTO*, *MC4R*, *TMEM18*, *KCTD15*, *SH2B1*, *NEGR1*, *SEC16B*, *ETV5*, *BDNF*, y *BCDIN3* (tabla 4). Finalmente un último estudio realizado para asociación con obesidad extrema, Meyre y cols. analizaron datos de GWAS de 1,380 sujetos de origen europeo con obesidad temprana y adultos con obesidad mórbida y 1,416 controles delgados reportando 3 nuevos *loci* de riesgo en los genes *NPC1*, *MAF* y *PTER* (Walley, J.A. y cols. 2009; Scherag, A.S., y cols. 2010; Willer, C.J., y cols. 2009).

Figura 2. Estudios para la identificación de *loci* de susceptibilidad a obesidad a lo largo del tiempo



Adaptado de: Vimalaewaran, K.S., 2010.

3.6.3. Estudios de Genética de Obesidad en Población Mexicana

En México existen pocos estudios que evalúen el componente genético asociado al desarrollo de la obesidad. El hallazgo más relevante posiblemente sea la replicación de la asociación del gen *FTO* (rs9939609, rs1421085), con obesidad en población mestiza mexicana particularmente con obesidad clase III ($P=0.0000004$) (Villalobos-Comparan, M., 2008).

Los mestizos representan la posición intermedia entre las poblaciones indígenas y el resto de las poblaciones. El mestizaje se define como un evento en el que al menos dos

poblaciones establecen contacto y flujos genéticos tras un periodo de aislamiento lo suficientemente largo como para que se hayan diferenciado en sus frecuencias genéticas. Se debe de considerar un periodo largo de diferenciación durante el cual la importancia del flujo genético es reducida, tras este periodo que permite la diferenciación a nivel genético de ciertas poblaciones sigue el periodo de contacto y mestizaje que comprende el periodo colonial y continúa hasta la actualidad. Una de las consecuencias importantes del mestizaje puede ser la generación de nuevas combinaciones de alelos en distintos *loci* (haplotipos) y a nivel microevolutivo tiene otras dos implicaciones muy interesantes, una es que el grupo mestizo suele presentar mayor diversidad que sus poblaciones ancestrales y que el mestizaje es un factor de reducción de la divergencia entre poblaciones siendo un puente entre las poblaciones indígenas ancestrales. El mestizaje en México está representado por un modelo trihíbrido que incluye la mezcla de poblaciones americanas, europeas y africanas, considerando la historia particular de cada región, ya que los componentes se fusionaron en mayor o menor medida de acuerdo a la proporción de cada grupo étnico (Acuña-Alonzo, V., 2006).

Tabla 4. Principales variantes genéticas asociadas a Obesidad por medio de GWAS en población Europea

Cromo soma	Gen Símbolo	Nombre	Posible Función	Variante	A R	OR	Estudio GWA
1q25	<i>SEC16B, RASAL2</i>	SEC16 homologo B	Organización de sitios transicionales del RE y transporte de proteínas	rs10913469	C	0.026 Z-score o 0.11 Kg/m ² .	Thorleifsson Nature Genetics, 2009.
1p31	<i>NEGR1</i>	Regulador de crecimiento neuronal 1.	Desarrollo neuronal	rs2815752	A	0.10 Kg/m ² .	Willer y cols. (Nature Genetics, 2009)
				rs2568958	A	0.030 Z-score o 0.13 Kg/m ² .	Thorleifsson y cols. Nature Genetics, 2009.
2p25	<i>TMEM18</i>	Proteína transmembranal 18	Desarrollo neuronal	rs6548238	C	0.26 Kg/m ² .	Willer y cols. (Nature Genetics, 2009)
				rs7561317	G	0.043 Z-score o 0.19 Kg/m ² .	Thorleifsson Nature Genetics, 2009.
3q27	<i>ETV5, DGKG, SFRS10,</i>	ETS variante 5	Factor Transcripcional	rs7647305	C	0.043 Z-score o 0.19 Kg/m ² .	Thorleifsson Nature Genetics, 2009.
4p13	<i>GNPDA2</i>	Glucosamina 6 fosfato deaminasa 2	Enzima alostérica	rs10938397	G	0.19 Kg/m ² .	Willer y cols. (Nature Genetics, 2009)
6	<i>PRL</i>			rs4712652	A		Meyre y cols. Nature Genetics, 2009
10p12	<i>PTER</i>	Gen relacionado fosfodiesterasa	Tiene una función en apoptosis	rs10508503	C	0.017 Z-score o 0.07 Kg/m ² .	Meyre y cols. Nature Genetics, 2009
11p11	<i>MTCH2</i>	Receptor hormonal concentrador de melanina	Promueve la ingesta de alimentos	rs10838738	G	0.07 Kg/m ² .	Willer y cols. (Nature Genetics, 2009)
11p14	<i>BDNF</i>	Factor neurotrópico derivado del cerebro	Regulación del desarrollo, respuesta a estrés, desordenes del humor, involucrado en conducta alimentaria y regulación del peso corporal	rs4923461	A	0.043 Z-score o 0.19 Kg/m ² .	Thorleifsson y cols. Nature Genetics, 2009.
12q13	<i>FAIM2/BCDIN3</i>	Molécula inhibitoria de Fas apoptótica 2	Involucrado en apoptosis	rs7138803	A	0.020 Z-score o 0.09 Kg/m ² .	Thorleifsson y cols. Nature Genetics, 2009.
16p11	<i>SH2B1</i>	Homologo SH2-B	Implicado en señalización de leptina	rs7498665	G	0.15 Kg/m ² .	Willer y cols. (Nature Genetics, 2009)
				rs8049439	C	0.034 Z-score o 0.15 Kg/m ² .	Thorleifsson Nature Genetics, 2009.
16q12	<i>FTO</i>	Gen asociado a obesidad y masa grasa	Involucrado en regulación del balance energético	rs9939609	A	0.10 Z-score o 0.4 Kg/m ² .	Frayling y cols. Science, 2007
				rs9930506	G	0.13 Z-score o 0.66 Kg/m ² .	Scuteri y cols. PLoS Genetics, 2007.
				rs1121980	A	0.06 Z-score o 0.26 Kg/m ² .	Loos y cols. Nature Genetics, 2008.
				rs9939609	A	0.33 Kg/m ² .	Willer y cols. (Nature Genetics, 2009)
				rs8050136	A	0.08 Z-score o 0.35 Kg/m ² .	Thorleifsson. Nature Genetics, 2009.
				rs1421085	C	0.08 Z-score o 0.35 Kg/m ² .	Meyre y cols. Nature Genetics, 2009
16q23	<i>MAF</i>	Homologo del oncogen de fibrosarcoma V-mafmusculoaponeurotico	Involucrado en desarrollo y diferenciación celular, notablemente del sistema inmune, páncreas y tejido adiposo	rs1424233	A	0.030 Z-score o 0.13 Kg/m ² .	Meyre y cols. Nature Genetics, 2009
18q11	<i>NPC1</i>	Enfermedad de	Involucrado en el	rs1805081	A	0.032 Z-score o 0.14 Kg/m ² .	Meyre y cols. Nature Genetics, 2009

		Niemann-Pick, tipo C1	transporte de lípidos en el sistema nervioso central, hígado y macrófagos				
18q21	<i>MC4R</i>	Receptor de melanocortina 4	Inhibe la ingesta de alimentos e incrementa el rango metabólico	rs17782313	C	0.05 Z-score o 0.22 Kg/m ² .	Loos y cols. Nature Genetics, 2008.
				rs12970134	A	0.25 Kg/m ² .	Chambers Nature Genetics, 2008
				rs17782313	C	0.20 Kg/m ² .	Willer y cols. (Nature Genetics, 2009)
				rs12970134	A	0.044 Z-score o 0.19 Kg/m ² .	Thorleifsson Nature Genetics, 2009.
				rs17782313	C	0.074 Z-score o 0.32 Kg/m ² .	Meyre y cols. Nature Genetics, 2009
19q13	<i>KCTD15</i>	Dominio de tetramerización del canal de potasio 15	Expresado en hipotálamo	rs11084753	G	0.06 Kg/m ² .	Willer y cols. (Nature Genetics, 2009)
				rs29941	C	0.04 Z-score o 0.17 Kg/m ² .	Thorleifsson Nature Genetics, 2009.
8p23	<i>MTMR9</i>	Proteína 9 relacionada a microtubularina	Expresada en hipotálamo	Rs2293855			Yanagiya, T., y cols., Hum Mol Genet, 2007.

4. PROBLEMA DE INVESTIGACION

A pesar de que la población mexicana representa uno de los grupos de estudio más interesantes debido a la alta prevalencia de obesidad y co-morbilidades asociadas, a la fecha son pocos los estudios genéticos realizados que den idea de la base genética de predisposición a obesidad en nuestra población; siendo la gran mayoría de ellos realizados en población México-americana. Recientemente, los estudios de asociación del genoma completo en caucásicos han descrito nuevos genes o variantes asociadas a la obesidad. Sin embargo, se sabe que la participación de los genes o variantes respecto a una determinada enfermedad varía entre poblaciones. Por lo anterior se hace necesario determinar si variantes genéticas asociadas a la obesidad en poblaciones caucásicas pueden ser consideradas factores de riesgo genético para el desarrollo de obesidad en población mexicana.

5. HIPOTESIS

Variantes comunes identificadas a través de estudios de asociación del genoma completo (GWAS) participan en el desarrollo de obesidad en población mexicana.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

- Evaluar la participación de 18 variantes de 17 genes en el desarrollo de obesidad en distintos grupos de población mexicana.

6.2. Objetivos particulares

- Evaluar la contribución de las variantes en el estudio en el desarrollo de obesidad en población adulta mexicana a través de un estudio de asociación caso-control.
- Replicar la participación de las variantes que resulten asociadas del estudio de casos y controles en tres cohortes incluyendo población adulta, indígena e infantil mexicana.
- Determinar si los genes que se encuentran asociados a la obesidad están relacionados con alteraciones parámetros metabólicos.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Selección de SNPs

Se identificaron en la literatura un total de 36 SNPs reportados localizados en 17 diferentes genes asociados a obesidad provenientes de 5 diferentes estudios de escrutinios completos del genoma (GWAS). La mayoría de ellos realizados en población de origen Europeo (Tabla 4). En este estudio se seleccionaron 18 variantes (17 genes) siguiendo los siguientes criterios: variantes con una frecuencia >5% (Hap-Map México-americanos), que no estuvieran en desequilibrio de ligamiento. Las variantes seleccionadas fueron: rs10938397 en **GNPDA2**, rs11084753 y rs475285 en **KCTD15**, rs2815752 en **NEGR1**, rs29941 en **MTCH2**, rs6548238 en **TMEM18**, rs7498665 en **SH2B1**, rs7647305 en **SFRS10/ETV5**, rs10913469 en **SEC16B**, rs6265 en **BDNF**, rs7138803 en **BCDIN3**, rs2293855 en **MTMR9**, rs10508503 en **PTER**, rs1424233 en **MAF**, rs1805081 en **NPC1**, rs4712652 en **PRL**, rs17782313 en **MC4R**, rs7566605 en **INSIG2**.

7.2. Estudio de asociación caso control

7.2.1. Sujetos de estudio

Se incluyeron un total de 1156 sujetos mexicanos mestizos en al menos 3 generaciones (individuos que hayan nacido en México cuyos padres y abuelos se identifiquen a sí mismos como mestizos mexicanos), no emparentados, que no padecieran enfermedades crónicas que comprometieran el peso corporal (diabetes, cáncer, entre otras) captados en distintas instituciones públicas del Distrito Federal (Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM; Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”, Hospital General “Rubén Leñero” y el Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutrición “Salvador Zubirán”) de los cuales 473 fueron sujetos controles (IMC >10 y ≤ 25 kg/m²) con una edad mayor a 30 años para disminuir la probabilidad de incluir sujetos jóvenes que desarrollen obesidad a una edad mayor, considerando los datos de la ENSANUT 2006, que muestran que después de los 30 años se incrementa la prevalencia de obesidad en la población mexicana; y 683 sujetos obesos, de los cuales 441 presentaron obesidad grado I y II (IMC ≥ 30 kg/m² y <40 kg/m²) y 242 fueron obesos mórbidos (IMC ≥ 40 kg/m²). A todos los participantes en el estudio se les aplicó un cuestionario de datos generales aprobado por el Comité de ética del Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutrición Salvador Zubirán, en donde se firmó una carta de

consentimiento informado para la toma de muestra de sangre periférica. Mediante el cuestionario se recolectó información general de los individuos como nivel socioeconómico y educativo, edad, sexo, origen de los padres y abuelos, antecedentes heredofamiliares patológicos y no patológicos.

7.2.2. Mediciones Antropométricas

Se realizaron determinaciones de peso, talla, circunferencia de cintura, circunferencia de cadera y presión arterial utilizando métodos y equipos estandarizados. El índice de masa corporal (IMC) fue calculado como el peso en kilogramos dividido entre la talla en metros cuadrados ($IMC = \text{peso} / \text{talla}^2$). El estatus de obesidad fue definido de acuerdo a lo establecido por la OMS (OMS, 2000; Casanueva, E., 2008).

7.2.3. Determinaciones bioquímicas

Para la determinación de los parámetros bioquímicos se realizó una toma de sangre periférica con un ayuno mínimo de 8 horas, separando el suero de dicha muestra. Todas las mediciones se realizaron en colaboración con el Departamento de Endocrinología y Metabolismo de Lípidos del INCMNSZ utilizando procedimientos estandarizados y reactivos comerciales. La determinación del perfil de lípidos (concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos) se realizó con pruebas enzimáticas (Boehringer-Mannheim), los niveles plasmáticos de HDL se midieron usando ácido fosfotúngstico y Mg^{2+} . Las mediciones de glucosa y creatinina se realizaron a través de métodos enzimáticos (Boehringer-Mannheim) y los niveles plasmáticos de insulina se midieron por radioinmunoensayo. Los niveles de ApoA-1 y ApoB se midieron utilizando un kit comercial (Beckman). En algunos casos se realizaron determinaciones de leptina y adiponectina séricos por métodos inmunoenzimáticos (Miliopore). Se calculó el modelo de homeóstasis para evaluar resistencia a la insulina (HOMA-IR), a partir de las mediciones de glucosa (mmol/mL) e insulina (mU/mL) en ayuno utilizando la fórmula reportada por Matthews:

Resistencia a la insulina (%IR) = $\text{insulina} \times \text{glucosa} / 22.5$

7.2.4. Extracción de ADN

El DNA genómico fue obtenido de muestras de sangre periférica a partir de 1 ml de sangre total mediante un kit comercial (QUIAmp 96 DNA BLOOD KIT) basado en el método de sales (Miller A, y cols. 1988).

7.2.5. Calidad e integridad del DNA

Para corroborar la integridad del DNA se realizó electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, previamente teñido con bromuro de etidio (0.5 μ L), utilizando TBE como amortiguador (Tris-HCl 0.9 M (pH=7), Acido bórico 0.9M, (NA₂EDTA.2H₂O 2.5mM); La migración se efectuó a 65 volts por 20 min, y se observó en un transiluminador de luz UV (Sambrook y cols., 1990). Para determinar la concentración y pureza del DNA, se realizó un análisis espectrofotométrico mediante lecturas a 260 y 280 nanómetros utilizando el equipo Nanodrop 2000c (Thermo Scientific®).

7.2.6. Análisis de genotipificación

Los ensayos de genotipificación se realizaron en un equipo de PCR tiempo real utilizando ensayos tipo Taqman. La discriminación alélicas se realizó con el sistema ABI Prism 8900HT (Applied Biosystems). Adicionalmente se realizaron genotipificaciones por el método de KASPar (KBioscience), el cual se basa en un sistema de transferencia de energía fluorescente mediante resonancia (FRET) y permite la detección de SNPs, utilizando el método de competencia alelo específico. El análisis de 1 de los SNPs incluidos fue corrido por ambos métodos para todas las muestras sin observar genotipos discordantes.

Al menos el 10% de las muestras fueron analizadas por duplicado para confirmar los resultados, confirmándose en el 98% de los casos.

Genotipificación de Marcadores Ancestrales Informativos (AIMs)

Se seleccionó un panel de 10 AIMs que distinguen principalmente las ancestrías indígena Americana y Europea con un $\delta > 0.44$ (rs4884, rs2695, rs17203, rs2862, rs3340, rs722098, rs203096, rs223830, rs281478 y rs1800498) (Bonilla, 2004; Choudhry, 2006). Estos 10 AIMs fueron genotipificados en todos los individuos incluidos en el estudio de caso-control.

7.2.7. Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el programa estadístico SPSS para Windows versión 15.0. Se calcularon medias \pm desviación estándar y frecuencias de los parámetros basales de los individuos participantes.

La asociación de los genotipos con el estatus de obesidad se realizó a través de regresión logística múltiple ajustando por género. Los análisis se realizaron utilizando tres diferentes modelos genéticos (aditivo, dominante y recesivo) para cada uno de los SNPs. Los rasgos cuantitativos asociados a obesidad se evaluaron a través del modelo lineal general ajustando por posibles confusores. Así mismo se calculó el equilibrio de Hardy Weinberg por medio de una prueba de X^2 considerando significancia estadística a una $P < 0.05$.

Para evaluar el efecto de una posible estratificación poblacional en las asociaciones encontradas con la obesidad se utilizó el programa ADMIXMAP (Hoggart et al., 2003; 2004). Este programa utiliza un modelo de regresión logística para analizar un rasgo de acuerdo al mestizaje individual, pudiendo incluir el ajuste por covariables como edad, género y otros factores potencialmente confusores. Puesto que la población mexicana es principalmente el resultado del mestizaje de las poblaciones indígena y española (Gorodezky et al., 2001; Lisker et al., 1990), para el análisis se utilizaron frecuencias alélicas de marcadores de mezcla étnica previamente reportadas para estas dos poblaciones (Bonilla et al., 2004; Choudhry et al., 2006)

7.3. Análisis de Réplica

Estudio en la población adulta (mestiza e indígena) e infantil

7.3.1. Población adulta mestiza

Se incluyeron 945 sujetos mexicanos mestizos en al menos 3 generaciones no relacionados, con edad mayor a 18 años captados de manera consecutiva en diferentes instituciones públicas.

7.3.2. Población indígena mexicana

Se incluyeron 768 sujetos no relacionados mayores de 18 años pertenecientes a 6 grupos indígenas (sujetos que se reconocen por si mismos como indígenas, que nacieron y viven en sus comunidades de origen, hablan su lengua nativa y conservan sus costumbres y tradiciones de origen al igual que sus padres y abuelos) en comunidades rurales (incluyendo 77 seris del estado de Sonora, 117 coras de Nayarit, 271 nahuas y 112 totonacas de Puebla, 83 Zapotecos de Oaxaca, 108 Mayas de Yucatán). Las muestras de sangre de estos individuos fueron tomadas con la autorización de las autoridades locales y previa firma del consentimiento informado. Se contó con un traductor para aquellos casos que lo requirieran.

7.3.3. Población infantil

Se incluyeron 1218 niños mexicanos mestizos en al menos 3 generaciones no relacionados de edades entre 6 y 15 años captados en la Convivencia Infantil 2008 de la Secretaria de Salud. Un consentimiento informado fue firmado por los padres o tutores.

La asociación con los parámetros antropométricos y bioquímicos analizados en esta etapa se realizó por medio de análisis de regresión lineal ajustando por diferentes confusores (edad, género, IMC, entre otros) para cada una de las poblaciones analizadas.

8. RESULTADOS

8.1. Análisis de asociación caso-control

8.1.1. Características antropométricas y bioquímicas de la población del estudio.

Se incluyeron un total de 1156 individuos de los cuales 473 fueron sujetos delgados (controles) y 683 sujetos con obesidad (casos). Los sujetos obesos fueron estratificados de acuerdo al grado de obesidad utilizando los criterios definidos en el apartado de materiales y métodos en obesos grado I y II (n=441) y obesos grado III o mórbidos (n=242). Como se observa en la tabla 1, en todos los grupos el porcentaje de mujeres fue superior al de hombres. También se muestran los datos obtenidos de las determinaciones antropométricas y bioquímicas de los participantes estratificados por el grado de obesidad. Como se esperaba se observaron diferencias significativas con todos los parámetros asociados a la obesidad tales como circunferencia de cintura, circunferencia de cadera e índice cintura/cadera. De igual manera, los sujetos obesos mostraron niveles más elevados de la mayoría de los parámetros asociados a riesgo metabólico, como son los niveles de triglicéridos, insulina, HOMA-IR, leptina, entre otros.

TABLA 1. Principales características antropométricas y bioquímicas de la población de estudio de caso-control.

VARIABLES	Sujetos Controles	Sujetos Obesos 1 y 2 + Sujetos Obesos Mórbidos	Sujetos Obesos I y 2	Sujetos Obesos Mórbidos
muestra	n=473	n=683	n=441	n=242
H:M	170:303	204:479	141:300	63:179
(%H/M)	35.9 / 64.1	29.9 / 70.1	32 / 68	26 / 74
Edad (años)	42.38±12.29	41.39±12.51*	42.52±13.14**	39.34±10.99***
circunferencia cintura (cm)	79.43±8.52	112.66±17.52*	103.94±10.58**	129.65±15.84***
circunferencia cadera (cm)	94.91±5.76	117.92±13.02*	113.50±8.39**	138.76±10.55***
Índice C/C	0.837±0.08	0.917±0.079*	0.915±0.08**	0.927±0.092
Pas (mmHg)	112.25±15.64	126.12±18.49*	125.32±19.68**	127.74±15.73
Pad (mmHg)	75.20±9.59	83.29±12.75*	82.46±10.88**	84.99±15.76***
glucosa (mg/dL)	93.93±25.13	109.56±43.77*	109.33±40.92**	109.99±48.79
Insulina (mcU/mL)	7.09±4.79	17.98±12.80*	15.06±9.55**	23.15±15.82***
HOMA-IR	29.99±24.34	90.63±88.30*	74.14±68.78**	120.75±109.72***
Colesterol total (mg/dL)	201.09±41.67	199.56±42.86	207.30±41.81**	185.31±41.17***
Triglicéridos (mg/dL)	141.39±121.38	196.19±118.90*	206.94±130.51**	176.41±90.83***
HDL (mg/dL)	51.15±13.42	40.91±11.04*	42.24±10.91**	38.46±10.88
LDL (mg/dL)	123.13±32.65	119.91±35.40	124.72±36.99	110.75±30.19***
APOA1 (mg/dL)	141.40±26.39	156.21±147.64*	130.70±22.93**	212.5±253.8***
APOB (mg/dL)	103.87±31.16	115.15±27.64*	116.60±27.73**	112.02±27.26
Leptina (mg/dL)	11.90±7.10	42.40±23.12*	32.02±16.90**	52.71±23.89***

Adiponectina (mg/dL)	12.42±6.12	9.83±6.19*	10.70±5.19**	9.04±6.89***
<p>H –hombres, M – mujeres, Índice C/C – índice cintura/cadera, Pas - presión arterial sistólica, Pad – presión arterial diastólica, HDL – lipoproteínas de alta densidad, LDL – lipoproteínas de baja densidad APOA1 – apolipoproteína A1, APOB – apolipoproteína B.</p> <p>Los datos se presentan como medias ± Desviación Estándar.</p> <p>Prueba estadística: T para muestras independientes.</p> <p>*P ≤0.05 sujetos control vs sujetos obesos grado I, II y III; **P ≤0.05 sujetos control vs sujetos obesos grado I, II; ***P ≤0.05 sujetos obesos grado I y II vs sujetos obesos grado III.</p>				

8.1.2. Estudio de asociación caso-control: Análisis de 18 variantes génicas.

El análisis de las 18 variantes génicas incluidas en 17 genes mostró asociación significativa a un mayor riesgo de obesidad para 3 de las 18 variantes estudiadas (17%) (SNPs: rs6548238 del gen *TMEM18*, rs7566605 del gen *INSIG2* y rs7138803 del gen *BCDIN3*). Los alelos de riesgo fueron los mismos que los observados para la población europea, exceptuando *INSIG2*. Además, el análisis estratificado por el grado de obesidad permitió identificar asociación de dos SNPs adicionales ubicados en los genes *SH2B1* (SNP rs7498665, P=0.045 asociado a la obesidad grado I y II) y *MC4R* (SNP rs17782313, P=0.004 asociado III). Es importante mencionar que los resultados permanecieron significativos después de ajustar por distintas variables confusoras como la edad, género y el grado de mezcla étnica. Adicionalmente, 5 SNPs ubicados en los genes *NEGR1*, *BDNF*, *GNPDA2*, *KCTD15* y *SEC16B* mostraron un valor de P≤0.2 (ya sea al analizar particularmente por algún grado de obesidad o agrupando a todos los sujetos obesos), por lo que aún cuando no alcanzaron asociación significativa con el desarrollo de la obesidad, pudieran participar en la modulación de parámetros relacionados con esta patología, como el IMC.

TABLA 2. Análisis de Asociación Caso contra Control

GEN	SNP	Sujetos Delgados VS Sujetos Obesos			Sujetos Delgados VS Sujetos Obesos I,II			Sujetos Delgados VS Sujetos Obesos Mórvidos			Sujeto Delgados VS Sujetos Obesos	
		RM	IC (95%)	P	RM	IC (95%)	P	RM	IC (95%)	P	P ajustada por mezcla étnica	Alelo de riesgo
<i>FTO</i> [®]	rs9939609	1.676	1.187-2.366	0.003*	1.319	0.894-1.946	0.163	2.237	1.497-3.344	0.856 E-05*	0.003*	A
<i>TMEM18</i>	rs6548238	1.564	1.151-2.126	0.004*	1.743	1.230-2.469	0.002*	1.265	0.855-1.869	0.239	0.004*	C
<i>INSIG2</i>	rs7566605	1.335	1.090-1.634	0.005*	1.384	1.106-1.732	0.004*	1.230	0.927-1.632	0.152	0.005*	G
<i>FAIM2/BCDIN3^R</i>	rs7138803	1.851	1.036-3.306	0.038*	1.857	0.998-3.454	0.050*	1.784	0.857-3.713	0.121	0.040*	A
<i>BDNF</i>	rs6265	1.195	0.945-1.510	0.136	1.136	0.857-1.474	0.338	1.343	0.968-1.864	0.077	0.122	G
<i>SH2B1</i>	rs7498665	1.120	0.946-1.326	0.187	1.209	1.004-1.456	0.045*	1.033	0.824-1.295	0.778	0.048*♦	G
<i>GNPDA2</i>	rs10938397	1.125	0.940-1.345	0.198	1.153	0.948-1.403	0.153	1.063	0.835-1.353	0.619	0.174	G
<i>NEGR1^R</i>	rs2815752	1.367	0.823-2.270	0.227	1.255	0.719-2.191	0.424	1.636	0.784-3.411	0.190	0.191	T
<i>KCTD15</i>	rs29941	1.122	0.919-1.310	0.237	1.139	0.916-1.416	0.241	1.094	0.854-1.401	0.477	0.168	C
<i>MC4R</i>	rs17782313	1.229	0.873-1.731	0.238	1.062	0.719-1.568	0.763	1.972	1.276-3.047	0.004*	0.004*♦	C
<i>SEC16B</i>	rs10913469	1.093	0.883-1.354	0.412	1.226	0.975-1.540	0.081	1.272	0.920-1.758	0.145	0.500	C
<i>KCTD15</i>	rs11084753	1.070	0.890-1.286	0.471	1.061	0.870-1.294	0.561	1.100	0.844-1.434	0.481	0.483	G
<i>NPC1</i>	rs1805081	1.062	0.843-1.339	0.608	1.148	0.892-1.476	0.284	1.105	0.823-1.484	0.505	0.612	G
<i>SFRF10</i>	rs7647305	1.061	0.796-1.415	0.684	1.180	0.858-1.625	0.309	1.127	0.787-1.612	0.514	0.698	C
<i>MAF</i>	rs1424233	1.049	0.833-1.320	0.685	1.077	0.844-1.374	0.551	1.032	0.759-1.403	0.843	0.686	A
<i>MTMR9</i>	rs2293855	1.029	0.824-1.286	0.800	1.097	0.861-1.397	0.453	1.113	0.829-1.495	0.477	0.759	A
<i>PRL</i>	rs4712652	1.022	0.822-1.270	0.846	1.103	0.874-1.393	0.408	1.129	0.848-1.504	0.406	0.997	A
<i>MTCH2</i>	rs10838738	1.017	0.822-1.258	0.878	1.044	0.831-1.312	0.712	1.031	0.786-1.353	0.823	0.867	G
<i>PTER</i>	rs10508503	1.029	0.551-1.923	0.929	1.176	0.612-2.261	0.627	1.367	0.554-3.370	0.497	0.971	T

Sujetos Delgados (n=473) con IMC ≥ 18 - ≤ 25 kg/m²; Sujetos Obesos (n=614) con IMC ≥ 30 kg/m²; Sujetos Obesos I,II (n=425) con IMC ≥ 30 - < 40 kg/m²; Sujetos Obesos Mórvidos (n=189) con IMC ≥ 40 kg/m².

RM - razón de momios, IC- intervalo de confianza, P- valor P.

Los modelos utilizados para el análisis fueron aditivos (genotipo 1 vs genotipo 2 vs genotipo 3) solo aquellos marcados con ^R corresponden a modelos recesivos (genotipo 1+ genotipo 2 vs genotipo3).

Prueba estadística: Regresión Logística Múltiple.

*P significativa ≤ 0.05 .

Datos ajustados por género.

♦Datos publicados. Villalobos-Comparan y cols., 2008. ♦Valor de P para el mejor resultado de asociación.

___SNPs seleccionados para evaluación posterior en tres cohortes.

8.2. Réplica en tres cohortes poblacionales (adulta, infantil e indígena)

Las diez variantes cercanas o en los genes *TMEM18*, *INSIG2*, *BCDIN3*, *NEGR1*, *BDNF*, *GNPDA2*, *KCTD15* (rs29941), *SH2B1*, *MC4R* y *SEC16B* que mostraron asociación significativa o tendencia con la obesidad fueron analizadas en tres cohortes incluyendo población adulta (tanto mestiza como indígena) e infantil (mestiza) con el objetivo de evaluar su asociación con rasgos relacionados con la obesidad particularmente el IMC.

8.2.1. Características demográficas, antropométricas y bioquímicas de las cohortes estudiadas

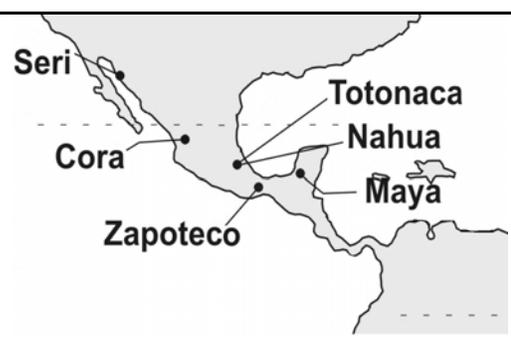
La cohorte de adultos mexicanos mestizos tuvo una media de edad de 39.7 años; de ellos 602 fueron mujeres y 340 hombres. Se observó una prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad del 63.6%, de los cuales el 25.8% fueron obesos. No se observaron diferencias significativas respecto al IMC entre mujeres y hombres. Dada la prevalencia elevada de obesidad, se observó que la media de algunos parámetros bioquímicos analizados como CT, TG y HDL, se encuentran alterados con respecto a los recomendados por la AHA (asociación americana del corazón) (anexo, tabla 1).

Por otra parte, la cohorte infantil incluyó un total de 1214 niños entre 6 y 15 años de edad de los cuales 639 fueron mujeres y 575 hombres, con una media de edad superior a 11 años. La prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad de acuerdo a los percentiles de IMC fue del 48.7%, de los cuales el 23.8% fueron obesos. Al igual que en la cohorte de adultos no se observaron diferencias significativas en cuanto a los percentiles del IMC entre niños y niñas. Los niveles de los parámetros bioquímicos analizados no se encontraron alterados en esta cohorte respecto a los establecidos para adultos por la AHA ya que no se cuentan con cortes de referencia a utilizar en niños (anexo, tabla 2).

La cohorte de población indígena incluyó 6 grupos distintos. En conjunto estos grupos estuvieron conformados por 522 mujeres y 246 hombres con una media de edad mayor a 46 años. En esta cohorte se observó una prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad del 64.6%, de los cuales el 23.2% presentan obesidad. El grupo de mujeres mostró un IMC significativamente superior, comparado con el grupo de hombres (27.48 ± 4.91 vs 25.99 ± 4.66 , $P=7.33 \times 10^{-5}$). De igual manera, se observó que las medias de los valores de glucosa, TG, e insulina fueron superiores con respecto a los recomendables por la AHA. (anexo, tabla 3).

TABLA 3. Población Indígena por grupo étnico y ubicación geográfica.

Indígenas	Mujeres n (%)	Hombres n (%)
	522 (67.97)	246 (32.03)
Mayas	72 (66.7)	36 (33.3)
Zapotecos	46 (55.4)	37 (44.6)
Coras	85 (72.6)	32 (27.4)
Nahuas	179 (66.1)	92 (33.9)
Totonacas	86 (76.8)	26 (23.2)
Seris	54 (70.1)	23 (29.9)



8.2.2. Análisis de réplica de 10 SNPs con el IMC

En la población adulta mestiza, se encontró asociación significativa a un mayor IMC en 3 de los 5 SNPs previamente asociados con la obesidad (*FAIM2/BCDIN3*, *TMEM18*, *INSIG2*, $P \leq 0.05$ ajustada por edad y género, respectivamente) y en 1 de los 5 SNPs para los cuales se observó una $P \leq 0.2$ de asociación a obesidad (*KCTD15*, $P \leq 0.05$ ajustada por edad y género). Como se muestra en la tabla 4, el gen *FAIM2/BCDIN3* presentó la mayor significancia utilizando un modelo recesivo, observándose que por cada dos copias del alelo A del SNP rs7138803 se incrementa 2.6 kg/m² del IMC ($P=0.001$). De manera interesante, el mayor efecto sobre la variación del IMC en población infantil también se observó para el SNP rs7138803 del gen *FAIM2/BCDIN3*, ya que por cada dos copias del alelo A se mostró un incremento de 1.48 kg/m² del IMC ($P=0.008$).

Además en la cohorte infantil los SNPs rs10938397 y rs10913469 de los genes *GNPDA2* y *SEC16B* mostraron asociación significativa a un mayor IMC ($P \leq 0.05$ ajustada por edad y género, respectivamente).

En conjunto los SNPs asociados a un mayor IMC en población adulta (*FAIM2/BCDIN3*, *TMEM18*, *INSIG2*, *KCTD15*) explican cerca de 3.9% de la variación del IMC. En contraste, en la población infantil los SNPs asociados a un mayor IMC (*FAIM2/BCDIN3*, *GNPDA2* y *SEC1B*) explican el 1.2% de la variación del IMC.

No obstante, en la población indígena, solo se observó asociación del SNP rs17782313 del gen *MC4R* con un mayor IMC, por cada copia del alelo C se observó un incremento de 2.191 kg/m² del IMC ($P < 0.05$, ajustada por edad, género y grupo étnico) (tabla 4).

TABLA 4. Evaluación del efecto del Alelo de Riesgo con respecto al IMC (kg/m²) en 3 cohortes poblacionales

SNPs	Gen cercano	AR	ADULTOS n=945			NIÑOS n=1218			INDIGENAS n=768		
			Efecto /alelo	ES /alelo	Valor P	Efecto /alelo	ES /alelo	Valor P	Efecto /alelo	ES /alelo	Valor P
rs7138803	<i>FAIM/BCDIN3^R</i>	A	2.642	0.801	0.001*	1.488	0.563	0.008*	-0.143	1.363	0.917
rs6548238	<i>TMEM18</i>	C	1.305	0.462	0.005*	0.430	0.298	0.149	0.522	0.558	0.35
rs7566605	<i>INSIG2</i>	G	0.796	0.293	0.007*	0.143	0.200	0.476	-0.158	0.291	0.588
rs11084753	<i>KCTD15</i>	C	0.584	0.252	0.021*	0.075	0.172	0.663	0.125	0.253	0.623
rs10938397	<i>GNPDA2</i>	G	0.407	0.251	0.106	0.414	0.179	0.021*	-0.153	0.269	0.57
rs7498665	<i>SH2B1</i>	G	0.323	0.242	0.181	0.129	0.169	0.447	0.18	0.263	0.494
rs10913469	<i>SEC16B</i>	C	0.365	0.292	0.211	0.295	0.219	0.049*	0.04	0.287	0.888
rs2815752	<i>NEGR1^R</i>	T	0.305	0.282	0.28	-0.337	0.213	0.115	-0.305	0.337	0.367
rs17782313	<i>MC4R</i>	C	0.188	0.472	0.69	0.166	0.320	0.604	2.191	0.861	0.011*
rs6265	<i>BDNF</i>	G	0.016	0.349	0.963	0.063	0.240	0.792	0.11	0.432	0.799

Prueba estadística: Regresión lineal.

Datos ajustados por edad y género (indígenas grupo étnico).

Los modelos utilizados para el análisis fueron aditivos (genotipo 1 vs genotipo 2 vs genotipo 3) solo aquellos marcados con ^R corresponden a modelos recesivos (genotipo 1+ genotipo 2 vs genotipo 3).

*P significativa ≤0.05

ES-error estándar

AR-alelo de riesgo

El análisis de los distintos parámetros bioquímicos mostró asociación significativa con algunos de los polimorfismos estudiados. Sin embargo, las asociaciones no fueron consistentes en las diferentes cohortes estudiadas. (anexos, tabla 4).

9. DISCUSIÓN

9.1. Análisis de asociación a obesidad

La obesidad es una patología compleja en la que participan tanto factores genéticos como ambientales. La prevalencia de la obesidad ha aumentado en todo el mundo y México no es la excepción, ya que de acuerdo con la ENSANUT 2006 más del 70% de la población adulta mexicana presenta sobrepeso u obesidad. Considerando que hasta un 70% de la variación del IMC puede deberse a factores genéticos, es de gran relevancia identificar las variantes genéticas de riesgo (Bellisari, A., 2007; Ramachandrapa, S., 2011). A pesar de ello, para esta patología son escasos los conocimientos acerca del componente genético de predisposición en la población mexicana. En este sentido, estudios recientes de asociación del genoma completo (GWAS) han permitido la identificación de SNPs asociados a enfermedades complejas, entre ellas la obesidad. Sin embargo, muy pocas variantes han sido consistentemente replicadas exceptuando el gen *FTO*. (Frayling, T.M., 2007). Tomando en cuenta la hipótesis que propone que variantes comunes se asocian a enfermedades comunes como la obesidad (Loos, R.J., 2003), en este estudio evaluamos la participación de variantes identificadas a través de GWAS en el desarrollo de la obesidad tales como *MC4R*, *INSIG2*, *TMEM18*, *GNPDA2*, *SH2B1*, *MTCH2*, *KCTD15*, *NEGR1*, *SEC16B*, *SFRS10/ETV5*, *BDNF*, *FAIM2/BCDIN3*, *MTMR9*, *NPC1*, *MAF*, *PTER* y *PRL* en distintos grupos de población mexicana. Nuestros análisis mostraron asociación a un mayor riesgo de obesidad para 6 de los 18 SNPS de los genes evaluados. Entre ellos, el gen *FTO* cuya asociación con la obesidad mórbida fue previamente reportada en población mexicana por nuestro grupo de investigación (Vilalobos-Comparan, M., 2008). Además identificamos asociación significativa ($P \geq 0.05$) con otros SNPs cercanos a los genes *TMEM18*, *INSIG2*, *BCDIN3*, *SH2B1* y *MC4R*. Los resultados de este estudio muestran que algunas de las variantes genéticas comunes asociadas a la obesidad en población europea y asiática (Hotta, K., 2009; Li, S., 2010; Cheung, C.Y., 2010; Renstrom, F., 2009) principalmente, también pueden ser consideradas factores de riesgo genético para el desarrollo de obesidad en población mexicana. Estos hallazgos, son congruentes con la composición étnica de la población mexicana, ya que ésta es resultado de una mezcla entre la población europea y nativa americana con una pequeña contribución de genes de origen africano (Lisker, R., 1965; Acuña-Alonso, V., 2006). El análisis de ajuste por mezcla étnica (admixture) no modificó de manera importante los resultados de asociación con la obesidad, permaneciendo significativos aún después de

considerar el grado de mestizaje de los casos y los controles, lo que sugiere que incluir sujetos mestizos en al menos 3 generaciones minimiza este posible confusor.

Siendo la obesidad una patología compleja, participan un numero grande de SNPs con una contribución pequeña, como la mostrada en los reportes de GWAS con intervalos de razones de Momios de 1.08 a 1.20 (Thorleifsson, G., 2009; Willer, C.J., 2009). A diferencia nosotros observamos razones de Momios mayores para los SNPs cercanos a los genes *TMEM18*, *FAIM2/BCDIN3* y *SH2B1*, sugiriendo una contribución mayor de estos SNPs en el desarrollo de la obesidad para la población mexicana. Es importante reconocer que una limitante de este estudio podría ser el tamaño de muestra de los grupos. No obstante, diversos reportes en los que se han evaluado un número similar de SNPs incluyendo todos los analizados en este estudio con resultados de asociación similares (Renstrom, F., 2009; Sandholt, C.H., 2011; Hotta, K., 2009) utilizaron un tamaño de muestra similar al de este trabajo. La falta de asociación de las 13 variantes de los genes *GNPDA2*, *MTCH2*, *KCTD15*, *NEGR1*, *SEC16B*, *SFRS10/ETV5*, *BDNF*, *MTMR9*, *NPC1*, *MAF*, *PTER* y *PRL* se podría deber, al menos en parte, al tamaño reducido de la muestra de estudio, a diferencias en los patrones de desequilibrio de ligamiento de la población mexicana mestiza, a diferencias en los factores ambientales de riesgo para la obesidad, al que está expuesta cada población y a diferencias en la composición corporal (Sandholt, C.H., 2011).

El SNP rs6548238 cercano al gen *TMEM18* mostró la asociación mas significativa a la obesidad y a un mayor IMC en población adulta. Nuestros resultados son similares a distintos reportes de metanálisis de GWAS para obesidad y de estudios independientes, los cuales muestran un efecto mayor para el gen *FTO*, seguido del gen *TMEM18* (Willer, C.J., 2009). El gen *TMEM18* codifica a una proteína de membrana nuclear que se ha demostrado recientemente que se une al DNA y suprime su transcripción (Rask-Andersen, M., 2011; Jurvansuu, J.M., 2011). A la fecha, existen cerca de 30 reportes, mostrando asociación del gen *TMEM18* con la obesidad tanto en niños como en adultos (Almen, M.S., 2010; Hofker, M., 2009; Willer, C.J., 2009; Thorleifsson, G., 2009). La variante rs6548238 ha sido la más estudiada de este gen, encontrándose en el reporte inicial que por cada copia del alelo C se aumenta 0.26 kg/m² del IMC (Willer, C.J., 2009). Estudios previos al igual que este estudio muestran un efecto mayor de 1.3 kg/m² por cada copia del alelo C. La variante rs6548238 se encuentra aproximadamente a 30 kb río abajo del gen *TMEM18*, por lo que es probable que tenga un efecto sobre la transcripción del gen. En los primeros reportes de asociación a obesidad se mostró que este gen tiene una expresión predominante en tejido cerebral,

específicamente en el hipotálamo y por tanto, se ha sugerido una función en la regulación del balance energético (Thorleifsson, G., 2009; Willer, C.J., 2009). Sin embargo, estudios recientes han demostrado una expresión del gen en la mayoría de los tejidos de distintas especies (Almen, M.S., 2010). Por otro lado, en un estudio realizado en modelos animales encontraron que la expresión de *TMEM18* no se encuentra regulada por las regiones cerebrales (hipotálamo ó tronco encefálico) que controlan la ingesta de alimentos bajo condiciones de ayuno o dieta alta en grasa o carbohidratos. No obstante, recientemente se reportó expresión disminuida de este gen, en el hipotálamo de ratas alimentadas con dieta alta en grasa (Almen, M.S., 2010; Gutiérrez-Aguilar, R., 2011). Por otra parte, Rask-Andersen y cols reportaron una fuerte correlación positiva entre la expresión de *TMEM18* en la corteza prefrontal y el peso corporal en un modelo de rata, lo que indica un papel potencial para *TMEM18* en las funciones relacionadas con los mecanismos de hambre y apetito que involucra a la corteza prefrontal (Rask-Andersen, M., 2011). En conjunto, estos estudios muestran que *TMEM18* se asocia de manera consistente con la obesidad, pero también es claro que los mecanismos moleculares y fisiológicos a través de los cuales *TMEM18* participa en esta patología aun no han sido completamente dilucidados.

Además de SNPs cercanos al gen *FTO* y *TMEM18*, el SNPs rs7138803 también fue asociado con obesidad y un mayor IMC en la cohorte de población adulta. El SNP se encuentra en una región intergenica cerca de los genes *FAIM2* y *BCDIN3*. El SNP ha sido consistentemente replicado en diversos estudios. Poco se sabe acerca de la biología del gen *FAIM2*, se ha demostrado que tiene una función antiapoptotica en células HeLa. Sin embargo, a pesar de tener una alta expresión en tejidos cerebrales específicamente en el hipotálamo, su posible función en este órgano se desconoce (Willer, C.J., 2009). Así mismo, el gen *BCDIN3* codifica para una proteína con posible función de metiltransferasa. En un estudio reciente, se mostró una expresión disminuida de este gen en tejidos periféricos (tejido adiposo y muscular) de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa, sugiriendo que esta proteína es regulada por la ingesta (Willer, C.J., 2009; Gutiérrez-Aguilar, R., 2011).

INSIG2 fue el primer *locus* asociado a obesidad identificado mediante GWAS (Herbert, A., 2006), pero su replicación ha proporcionado resultados inconsistentes en las diferentes cohortes analizadas (Hall, D.H., 2006; Lyon, H.N., 2007; Liu, Y.J., 2008; Yang, L., 2008; Tabara, Y., 2008; Dina, C., 2007; Andreasen, C.H., 2008) y por tanto su participación en el desarrollo de obesidad es controversial. Es de llamar la atención que, a pesar de que en nuestro estudio si pudimos observar una asociación significativa de la variante rs7566605 del

gen *INSIG2* con obesidad encontramos que el alelo G confirió un mayor riesgo de obesidad, contrario a lo reportado en el estudio en el que se identificó la variante donde el alelo C fue asociado a un mayor riesgo de obesidad (Herbert, A., 2006). La variante rs7566605 se encuentra aproximadamente 10 kb río arriba del gen *INSIG2*, por lo tanto puede afectar la actividad transcripcional del gen (Hotta, K., 2008). El gen *INSIG2* es expresado de forma ubicua, y se induce por insulina. Este gen se encuentra involucrado en la síntesis de ácidos grasos y colesterol (Takaishi, K., 2004; Goldstein, J.L., 2006; Hotta, K., 2008).

A diferencia de *TMEM18*, *INSIG2* y *BCDIN3*, el SNP rs7498665 cercano al gen *SH2B1* se encontró particularmente asociado a obesidad grado I y II. El SNP rs7498665 es no sinónimo (Ala484Thr) y se encuentra en una región rica en prolina, por lo cual la función de la proteína podría estar alterada en sujetos con el alelo de riesgo G, lo cual podría conducir a un mayor peso corporal (Hotta, K., 2011). La proteína adaptadora SH2B1 está involucrada en diversos procesos de transducción de señal, incluyendo la mediada por la unión de insulina y leptina. El gen *SH2B1* es expresado en la mayoría de tejidos incluyendo cerebro, hígado, músculo esquelético y tejido adiposo (Hotta, K., 2011). Se ha reportado que ratones con el gen *SH2B1* silenciado muestran alteraciones en la señalización de la insulina en músculo esquelético, hígado y tejido adiposo, los cuales progresivamente desarrollaron hiperinsulinemia, hiperglucemia e intolerancia a la glucosa. Además desarrollan hiperlipidemias, resistencia a la leptina, hiperfagia y obesidad. Por ello, se ha sugerido que este gen tiene una función relevante en la regulación del peso corporal y metabolismo de la glucosa (Duan, C., 2004; Ren, D., 2007; Hotta, K., 2011).

Por otro lado, encontramos que el SNP rs17782313 del gen *MC4R* se asoció solo con obesidad grado III en nuestra población. Este SNP fue previamente asociado con obesidad en población caucásica en adultos y niños en un estudio de GWA (Loos, R.J.F., 2008) y al igual que en nuestro estudio fue asociado a obesidad severa en población de origen belga (Beckers, S., 2011). El SNP se encuentra 188 kb río abajo del gen *MC4R*, lo cual podría estar influyendo en la expresión del gen. Así mismo se sabe que mutaciones en este gen son la principal causa de obesidad monogénica (Larsen, L.H., 2005). Por otra parte, el gen *MC4R* se expresa en altos niveles en áreas del hipotálamo involucradas en la regulación de la ingesta (Huszar, D., 1997).

9.2. Réplica de los genes asociados a la obesidad en tres cohortes.

Dada la complejidad de las enfermedades multifactoriales como la obesidad, es de gran importancia replicar la asociación genética en diferentes grupos de estudio. Así, en este trabajo se realizaron estudios para confirmar la participación de las variantes en el desarrollo de obesidad en diferentes cohortes de población mexicana. Debido a que el estudio de asociación caso-control se realizó en población adulta mestiza, no sorprende que los mismos alelos de riesgo de los SNPs de los genes *TMEM18*, *INSIG2* y *FAIM2/BCDIN3* se asociaran con un mayor IMC en la cohorte de mestizos adultos como se comentó previamente ya que compartían características similares como edad, nivel socioeconómico, origen étnico, entre otras. La variabilidad de IMC explicada por las 4 variantes asociadas significativamente a obesidad (*BCDIN3*, *TMEM18*, *INSIG2*, *KCTD15*) fue de cerca del 4% para la población adulta, la cual fue similar respecto a la varianza explicada por 10 variantes en un estudio realizado en población europea en donde fue de 4.5% (Sandholt, C.H., 2010).

Debido a que a la fecha, son pocos los estudios en los que se ha evaluado la participación de los genes identificados en los GWAs en la modulación del IMC en población infantil (Zhao, J., 2009; Elks, C.E., 2010; Choquet, H., 2010; Zhao, J. 2011). De manera interesante, el SNP rs7138803 ubicado entre los genes *FAIM/BCDIN3* mostró al igual que en la población adulta la asociación más significativa con el IMC ($P=0.001$ vs $P=0.008$). No obstante, se observó que el efecto del alelo de riesgo sobre el IMC fue casi de la mitad respecto al observado en los adultos, lo que podría deberse, a un menor tiempo de exposición a factores ambientales obesogénicos (interacción gen-ambiente). Esta interacción podría explicar la falta de asociación significativa de los genes *TMEM18* e *INSIG2* con el IMC en la población infantil.

Adicionalmente, la población infantil mostro asociación a un mayor IMC con los SNPs rs10938397 del gen *GNPDA2* y rs10913469 del gen *SEC16B* aparentemente no relevantes para la población. El gen *SEC16B* codifica a una forma larga y una forma corta de la proteína sec16, las cuales son expresadas ubicuamente (Bhattacharyya, D., 2007; Watson, P., 2006). Se ha sugerido que Sec16 puede tener una función en el transporte de secretogranina III y II junto con orexina, *NPY* y *POMC* del retículo endoplásmico al aparato del Golgi. Además podría estar implicado en la regulación de la secreción de péptidos relacionados con el apetito y por tanto, la alteración en la cantidad o en su función puede estar relacionada con el desarrollo de obesidad (Hotta, K., 2009). Respecto a *GNPDA2* es una enzima involucrada

en el metabolismo de aminoácidos y se ha reportado que tiene una alta expresión en el hipotálamo. No obstante, la función de la proteína en el hipotálamo aun no ha sido descrita (Willer, C.J., 2009).

A diferencia de lo observado en este estudio en el cual se evaluaron variantes de GWAS en población pediátrica europea, en las que reportan la mejor asociación con obesidad infantil para variantes cercanas al gen *FTO* y *TMEM18*, nosotros no observamos valores significativos para estas variantes (Zhao, J., 2010). En ese mismo estudio también reportaron asociación significativa a un mayor IMC para los genes *GNPDA2*, *INSIG2*, *MC4R*, *NEGR1*, *BDNF* y *KCTD15*. Sin embargo, de estos genes solo encontramos asociación significativa para el gen *GNPDA2*. Sin embargo, las variantes asociadas en la población infantil (*BCDIN3*, *GNPDA2*, *KCTD15*) solo logran explicar el 1.2% en la variabilidad del IMC, lo cual es muy similar a lo reportado por Zhao y cols para una cohorte de población infantil europea (Zhao, J., 2009).

Se calcula que existen más de 370 millones de indígenas en el mundo. México ha sido clasificado como uno de los países con mayor volumen demográfico de población indígena, ascendiendo a más de 12 millones de personas (13% de la población nacional) (CNDPI, 2006). Debido a que existen muy escasos estudios que reporten de la prevalencia de sobrepeso u obesidad en población indígena de México. En este estudio la frecuencia de sobrepeso u obesidad observada fue cercana al 65% similar a la reportada en la ENSANUT 2006 para población adulta, lo anterior indica que a pesar de los diferentes ambientes rural (población indígena) y urbano a los cuales se encuentran expuestas las diferentes cohortes poblacionales la prevalencia de obesidad es alta. Por otra parte, se ha determinado que estudios en poblaciones de diferentes ancestrías pueden ayudar a entender globalmente los factores genéticos y ambientales asociados con la obesidad, a pesar de ello, a la fecha los estudios realizados que evalúan el efecto de variantes identificadas en GWAS son de población europea y asiática y solo hay un estudio que analizó estas variantes en población africo-americana (Renstrom, F., 2009; Chloe, Y.Y., 2010; Hester, J.M. 2011), por tanto, a nuestro conocimiento no existen reportes previos que evalúen la importancia de SNPs o variantes genéticas asociadas a obesidad en población nativa mexicana. Sin embargo, a diferencia de la población adulta mestiza en la cohorte de población indígena evaluada solo el SNP rs17782313 del gen *MC4R*, resulto asociado a un mayor IMC. La falta de asociación con otras variantes no puede ser explicado por diferencias en las prevalencias de sobrepeso u obesidad en la cohorte de la población mestiza e indígena ya que fueron muy similares a

pesar de la diferente exposición ambiental o que las variantes genéticas que contribuyen a la obesidad en población nativa son diferentes a las de la población mestiza o caucásica y aún requieren ser identificadas o probablemente pueda deberse a las diferentes condiciones ambientales respecto al resto de la población mexicana (culturales, sociales, económicas, de ubicación geográfica y de marginación).

La obesidad es considerada el principal factor de riesgo para el desarrollo de comorbilidades como son hipertensión, DT2 o patologías relacionadas con el metabolismo de lípidos (Canoy, D., 2007). Sin embargo a pesar del hecho de que observamos asociaciones significativas entre los SNPs analizados con obesidad e IMC, no pudimos demostrar una asociación clara de esos SNPs con fenotipos o características comúnmente relacionadas a obesidad, en las diferentes cohortes estudiadas. Algunos estudios previos han mostrado asociación de los SNPs aquí estudiados con diferentes comorbilidades asociadas a la obesidad como resistencia a la insulina, DT2 y dislipidemias (Sandholt, C.H., 2011), en tanto que otros no han podido encontrar evidencia de asociación con rasgos metabólicos. Los diferentes resultados pueden ser explicados por factores que varían o difieren entre las poblaciones y muestras estudiadas, tales como diferencias en fenotipos estudiados, polimorfismos reguladores en otros genes, polimorfismos funcionales aún no identificados que se encuentren en desequilibrio de ligamiento con los SNPs estudiados, pequeños tamaños de muestra o los diferentes orígenes genéticos de las poblaciones estudiadas. Con base en lo anterior se puede sugerir que las variantes asociadas a la obesidad solo confieren un mayor riesgo para la obesidad o parámetros antropométricos relacionados como el IMC.

10. CONCLUSIONES

Este estudio mostró que cerca del 30% de los genes asociados con la obesidad, identificados a través de GWAS en poblaciones de origen europeo, también están asociados a un mayor riesgo de obesidad en la población mexicana y que algunos de ellos también representan un factor de riesgo para un mayor IMC desde la niñez. La falta de asociación con el IMC de la mayoría de los SNPs analizados en las poblaciones indígenas, sugiere la participación de variantes genéticas distintas a las previamente reportadas. Por ello, se requieren estudios adicionales que permitan identificar el componente genético de riesgo para la obesidad en las poblaciones indígenas.

Así mismo, es importante destacar que la mayoría de las variantes genéticas comunes identificadas por GWAS parecen conferir un riesgo moderado para el fenotipo de obesidad en la población Mexicana por ello es necesaria la evaluación de la contribución de otro tipo de variaciones en la secuencia de DNA además de los SNPs (CNVs, variantes poco frecuentes), así como la contribución del ambiente, interacciones gen-gen, gen-ambiente. Por tanto, con ayuda de tecnologías actuales se puede lograr la secuenciación de regiones grandes del genoma humano o incluso el genoma completo, lo que ayudara a identificar variantes raras y variaciones en el número de copias las cuales en combinación con las variantes comunes conocidas identificadas por GWAS o por otras metodologías, pueden mejorar el valor discriminativo de los factores genéticos.

Se ha reportado que casi todos los genes propuestos por GWAS asociados a obesidad muestran alta expresión en el SNC o son específicos del hipotálamo, sugiriendo una función en el control del balance energético. Sin embargo, se debe ser cuidadoso en concluir una influencia neuronal en la regulación del peso corporal. Para muchos de los *loci* reportados no es claro identificar cual es el gen causal. De hecho, muchos de ellos contienen múltiples genes y se ha propuesto más de un gen candidato por *loci* asociado. Por tanto, el resecuenciamiento de estas regiones es necesario para establecer los genes causales. Así como, estudios funcionales en modelos de ratón para esclarecer la función que desempeñan estos genes en el desarrollo de obesidad.

12. BIBLIOGRAFÍA

Acuña-Alonzo, V., Silva-Ramírez, B., Castillo-Vázquez, M., Granados-Arriola, J. Variación de la HLA-B en poblaciones mexicanas. *Bioquímica*. 2006. 31(2): 49-58.

Almen, M.S., Jacobsson, J.A., Shaik, J.O., y cols. The obesity gene, TMEM18, is of ancient origin, found in majority of neuronal cells in all major brain regions and associated with obesity in severely obese children. *BMC Med Genet*. 2010. 11(58).

Aronne, L.J. Classification of obesity and assessment of obesity-related health risks. *Obes Res*. 2002. 10(2): 105s-115s.

Barbany, C. 2006. Concepto y clasificación de la obesidad. En: *La obesidad en el tercer milenio*. Ed: Panamericana. pp: 94-97.

Beckers, S., Zegers, D., Freitas, F., y cols. Association study of MC4R with complex obesity and replication of the rs17782313 association signal. *Mol Genet Metab*. 2011. 103: 71-75.

Bellisari, A. Evolutionary origins of obesity. *Obes Rev*. 2007. (9): 165-180.

Bhattacharyya, D., Glick, B.S. Two mammalian Sec16 homologues have nonredundant functions in endoplasmic reticulum (ER) export and transitional ER organization. *Mol Biol Cell*. 2007. 18: 839-849.

Calzada, R. Prevención, diagnóstico y tratamiento de la obesidad en niños y adolescentes. *Revista de Endocrinología y Nutrición*. 2004. 12(4 suppl 3): S143-7.

Canoy, D., Buchan, I. Challenges in obesity epidemiology. *Obes Rev*. 2007. 8(1): 1-11.

Catalano, P.M. Obesity, insulin resistance and pregnancy outcome. 2010. *Reproduction*. 140(3): 365-71.

Chakraborty, R., Kamboh, M.I., Nwankwo, M., y cols. Caucasian genes in American blacks: new data. *Am J Hum Genet*. 1992. 50: 145-155.

Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas, Informe sobre desarrollo humano de los pueblos Indígenas de México 2006, México, D.F, 2006.

- Cordell, H.J., Clayton, D.G. Genetic association studies. *Lancet*. 2005 366(9491): 1121-31.
- Dawn Teare M., Barrett J.H. Genetic linkage studies. *Lancet*. 2005. 366(9490): 1036-44.
- Divers, J., Vaughan, L.K., Padilla, M. Correcting for measurement error in individual ancestry estimates in structured associations test. *Genetics*. 2007.
- Dobois, L., Girard, M., Girard, A., y cols. Genetic and environmental influences on body size in early childhood: a twin birth-cohort study. *Twin Res Hum Genet*. 2007. 10(3): 479-85.
- Duan, C., Yang, H., White, M.F., y cols. Disruption of the SH2B gene causes age-dependent insulin resistance and glucose intolerance. *Mol Cell Biol*. 2004. 24: 7435-7443.
- Fernandez, J.R., Casazza, K., Divers, J., y cols. Disruptions in Energy Balance: Does Nature overcome Nurture?. *Physiol Behav*. 2008. 94(1): 105-112.
- Ferranti, S. Mozaffarian, D. The Perfect Storm: Obesity, Adipocyte Dysfunction, and Metabolic Consequences. *Clinical Chemistry*. 2008. 54 (6): 945-955.
- Fuchs A. (2005). Epidemiología de la obesidad. *En: Obesidad, causas, consecuencias y tratamiento*. El Emporio Ediciones. Rep. Argentina. 752 pp.
- Frayling T.M., Timpson, N.J., Weedon, M.N., y cols. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*. 2007. 316(5826): 889-94.
- Freedman D.S, Ogden C.L., Flegal, K.M., y cols. Childhood overweight and family income. *Med Gen Med*. 2007. 9(2): 26.
- Galgani, J., Ravussin, E. Energy metabolism, fuel selection and body weight regulation. *Int J Obes*. 2008. 32(7): S109-S119.
- García- García E., Vázquez-Velázquez V. (2010). La necesidad de un diagnóstico integral para un tratamiento adecuado de la obesidad. *En: La Obesidad perspectivas para su comprensión y tratamiento*. Editorial medica panamericana. Mexico. 303 pp.

Gutierrez-Aguilar, R., Dong-Hoon, K., Woods, S.C., Seeley, R.J. Expression of New *Loci* Associated With Obesity in Diet-Induced Obese Rats: From Genetics to Physiology. 2011. *Obesity*. 236: 1-7.

Haworth, C.M., Carnell, S., Meaburn, E.L., y cols. Increasing Heritability of BMI and Stronger Associations With the FTO Gene Over Childhood. *Obesity*. 2008. 16(12): 2663-8.

Hernández-Jiménez, S. Fisiopatología de la obesidad. *Gac Med Mex*. 2004. 140(2): S27-S32.

Herrera, B., Lindgren, C. The Genetics of Obesity. *Curr Diab Rep*. 2010(10): 498-505.

Hester, J.M., Wing, M.R., Li, J. Implications of European derived adiposity *loci* in African-Americans. *Int J Obes*. 2011.

Hill, J.O., Peters, J.C. Environmental Contributions to the Obesity Epidemic. *Science*. 1998. 280: 1371-1374.

Hinney, A., Vogel, I.G., Hebebrand, J. From monogenic to polygenic obesity: recent advantages. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2010. 19: 297-310.

Hotta, K., Hosaka, M., Tanabe, A., y cols. Secretogranin II binds to secretogranin III and forms secretory granules with orexin, neuropeptide Y, and POMC. *J Endocrinol*. 2009. 202: 111-121.

Hotta, K., Kitamoto, T., Kitamoto, A., y cols. Computed tomography analysis of the association between the SH2B1 rs7498665 single-nucleotide polymorphism and visceral fat area. *J Hum Genet*. 2011. 56: 716-719.

Hotta, K., Nakamura, M., Nakamura, T., y cols. Association between obesity and polymorphisms in SEC16B, TMEM18, GNPDA2, BDNF, FAIM2 and MC4R in Japanese population. 2009. *J Hum Genet*. 54: 727-731.

[Hppt//www.world-heart-federation.org](http://www.world-heart-federation.org).

International Diabetes Federation. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. Bruselas: IDF Communications; 2006. Disponible en: <<http://www.idf.org/node/1271?unode=1120071E-AACE-41D2-9FA0-BAB6E25BA072>>.

Jurvansuu, J.M., Goldman, A. Obesity Risk Gene TMEM18 Encodes a Sequence-Specific DNA-Binding Protein. 2011. *PLoS ONE*. 6 (9): e25317.

Kelly, T., Yang, W., Chen, C.S., Reynolds, K., He, J., Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int J Obes*. 2008; 32(9): 1431-7.

Lara-Esqueda A., Aguilar-Salinas C.A., Velazquez-Monroy O., Gomez-Perez F.J., Rosas-Peralta M., Mehta R. The body mass index is a less-sensitive tool for detecting cases with obesity-associated co-morbidities in short stature subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004; 28(11): 1443-50.

Larsen, L.H., Echwald, T.I., Sorensen, T., y cols. Prevalence of mutations and functional analyses of melanocortin 4 receptor variants identified among 750 men with juvenile-onset obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005. 90: 219-224.

Li, S., Zhao, J.H., Luben, J.L., y cols. Cumulative effects and predictive value of common obesity-susceptibility variants identified by genome-wide association studies. *Am J Clin Nutr*. 2010. 91: 184-190.

Lindgren, C.M., Heid, I.M., Randall, J.C., y cols. Genome-wide association scan meta-analysis identifies three *Loc*i influencing adiposity and fat distribution. *Plos Genet*. 2009. 5:e1000508.

Lisker, R., Loria, A., Cordova, S. Studies on several genetic hematological traits of the mexican population. VII. Hemoglobin S. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency and other characteristics in a malarial region. *Am J Hum Genet*. 1965. 17(2): 179-187.

Loos, R.J.,Bouchard, C. FTO: the first gene contributing to common forms of human obesity. *Obes Rev*. 2008. 9(3): 246-50.

Loos, R.J., Bouchard, C. Obesity - is it a genetic disorder?. *J intern Med*. 2003. 254: 401-425.

Loos, R.J., Lindgren, C.M., Li, S. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat Gen.* 2008. 40 **(6)**: 768-775.

Loos, R.J. Recent progress in the genetics of common obesity. *Br J Clin Pharmacol.* 2009. 68**(6)**: 811-829.

Ng, M.C.Y., Tam, C.H.T., So, W.Y., y cols. Implication of Genetic Variants Near NEGR1, SEC16B, TMEM18, ETV5/DGKG, GNPDA2, LIN7C/BDNF, MTCH2, BCDIN3/FAIM2, SH2B1, FTO, MC4R, and KCTD15 with Obesity and Type 2 Diabetes in 7705 Chinese. 2010. *J Clin Endocrinol Metab.* 95**(5)**: 2418-2425.

Mamun, A.A., O'Callaghan M., Callaway, L., y cols. Associations of gestational weight gain with offspring body mass index and blood pressure at 21 years of age: evidence from a birth cohort study. *Circulation.* 2009. 119: 1720-1727.

McPherson, R. Genetic contributors to obesity. *Can J Cardiol.* 2007. 23 **(Suppl A)**: 23A-27A.

Meyre, D., Delplanque, J., Chevre, J.C., y cols. Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk *loci* in European populations. *Nat Genet.* 2009. 41**(2)**: 157-159.

Mutch, D.M., Cle'ment, K. Unraveling the Genetics of Human Obesity. *Plos genetics.* 2006. 2 **(12)** e188: 1956-1963.

National Cholesterol Education Program. Third Report of the National Cholesterol education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Final report. National Cholesterol Education Program, National Heart, Lung, and Blood Institute, National Institutes of Health; 2002 (NIH Publication num. 02-5215). Disponible en:<www.nhlbi.nih.gov/guidelines/cholesterol/atp3full.pdf>.

O'Rahilly, S. Human genetics illuminates the paths to metabolic disease. *Nature.* 2009. 462: 307-314.

Peeters, A., Barendregt, J.J., Willekens, F., Mackenbach, J.P., A.I.M.A., Bonneux, L. Obesity in adulthood and its consequences for life expectancy: a life-table analysis. *Ann Intern Med.* 2003. 138: 24–32.

Prentice, A.M., Jebb, S.A. Beyond body mass index. *Obes Rev.* 2001. 2(3): 141-147.

Ramachandrapa, S., Farooqui, I.S. Genetic approaches to understanding human obesity. 2011. *J clin Invest.* 121(6): 2080-2086.

Rankinen, T., Zuberi, A., Chagnon, Y.C., y cols. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obes Res.* 2006. 14: 529-644.

Rask-Andersen, M., Jacobsson, J.A., Moschonis, G., y cols. Association of TMEM18 variants with BMI and waist circumference in children and correlation of mRNA expression in the PFC with body weight in rats. *Eur J Hum Genet.* 2011. 1-6.

Reilly, J.J., Armstrong, J., Dorosty, A.R., y cols. Longitudinal study of parents. Children study team. Early life risk factors for obesity in childhood: cohort study. *Br Med J.* 2005. 330: 1357.

Ren, D., Zhou, Y., Morris, D., Neuronal SH2B1 is essential for controlling energy and glucose homeostasis. *J Clin Inves.* 2007. 117(2): 397-406.

Renstrom, F., Payne, F., Nordstrom, A., y cols. Replication and extension of genome-wide association study results for obesity in 4923 adults from northern Sweden. 2009. *Hum Mol Genet.* 18(8): 1489-1496.

Rokholm, B., Schou, A.C. y Sørensen, T. Developmental Origins of Obesity - Genetic and Epigenetic Determinants. *The Open Obesity Journal.* 2011 (3): 27-33.

Sambrook, J., Fritsch, F.E. y Maniatis, T. 1990. Agarose Gel Electrophoresis. *En: Molecular Cloning a Laboratory Manual.* (ed) Cold Spring Harbor Laboratory Press, United Status of America. Capitulo: 6.3-6.15.

Sandholt, C.H., Vestmar, M.A., Bille, D.S., y cols. Studies of Metabolic Phenotypic Correlates of 15 Obesity Associated Gene Variants. *PLoS ONE.* 2011. 6(9): e23531.

Saunders, C.L., Chiodini, B.D., Sham, P. y cols. Meta-analysis of genome-wide linkage studies in BMI and obesity. *Obesity* (Silver Spring). 2007. 15: 2263-75.

Secretaría de Salud y el Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional De Salud Y Nutrición 2006. México 2006, Primera Edición, pp. 85-103.

Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-174-SSA1-1998 para el manejo integral de la obesidad. Disponible en: <<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/174ssa18.html>>.

Serralde-Zúñiga A.E., Olgún-Contreras G. (2010). Obesidad en los niños y adolescentes. *En: La Obesidad perspectivas para su comprensión y tratamiento*. Editorial medica panamericana. México. 303 pp.

Silventoinen, K., Pietilainen, K.H., Tynelius, P., y cols. Genetic and environmental factors in relative weight from birth to age 18: the Swedish young male twins study. *Int J Obes*. 2007. 31(4): 615-21.

Spalding, K.L., Arner, E., Westermark, P.O., y cols. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature*. 2008. 453: 783-787.

Stephens, J.C., Briscoe, D., O'Brien, S.J. Mapping by admixture linkage disequilibrium in human populations: limits and guidelines. *Am J Hum Genet*. 1994. 55: 809-824.

Tanabe, A., Yanagiya, T., Lida, A., y cols. Functional single-nucleotide polymorphisms in the secretogranin III (SCG3) gene that form secretory granules with appetite-related neuropeptides are associated with obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007. 92:1145-1154.

Thorleifsson, G., Bragi, G., Gudbjartsson, D., y cols. Genome-wide association yields new sequence variants at seven *loci* that associated with measures of obesity. *Nat Genet*. 2009. 41(1): 18-24.

Van Vliet-Ostaptchouk, J.V., Hofker, M.H., Van der Schouw, Y.T., y cols. Genetic Variation in the hypothalamic pathways and its role on obesity. *Obes Rev*. 2009. 10: 593-609.

Villalobos-Comparán, M., Flores-Dorantes, T., Villarreal-Molina, T., y cols. The FTO gene is associated with adulthood obesity in the Mexican population. *Obesity*. 2008. Vol. 10. pp: 2296-301.

Vimaleswaran, K.S., Loos, R.J. Progress in the genetics of common obesity and type 2 diabetes. *Expert Rev Mo Medl.* 2010. 12 (**e7**): 1-27.

Walley, A.J., Asher, J.E., Froguel, P. The genetic contribution to non-syndromic human obesity. *Nature Reviews.* 2009. 10: 431-442.

Watson, P., Townley, A.K., Koka, P., y cols. Sec16 defines endoplasmic reticulum exit sites and is required for secretory cargo export in mammalian cells. *Traffic.* 2006. 7: 1678-1687.

Wiklund, P., Toss, F., Weinehall, L., y cols. Abdominal and gynecoid fat mass are associated with cardiovascular risk factors in men and women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008. 93: 4360-4366.

Willer, C.J., Speliotes, E.K., Loos,R.J., y cols. Six new *loci* associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nat Genet.* 2009. 41 (**1**): 25-34.

WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. Ginebra: World Health Organization 2000 (WHO Technical Report Series, num 894).

World Health Organization. Obesidad. (Referido en 2010) Disponible en: URL: <http://www.who.int/publications/es/>.

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/index.html>

Yanagiya, T., Tanabe, A., Lida, A., y cols. Association of single nucleotide polymorphisms in MTMR9 gene with obesity. *Hum Mol Genet.* 2007. 16(24): 3017-26.

13. ANEXOS

13.1. Características antropométricas y bioquímicas de las 3 cohortes de población adulta (mestiza e indígena) e infantil.

Tabla 1. Características antropométricas y bioquímicas de la población adulta mestiza

	Todos (n=942)	Femenino (n=602)	Masculino (n=340)	P
Edad_años	39.70 ± 13.53	41.34 ± 13.59	36.81 ± 12.94	5.36E-07
Peso	71.02 ± 15.52	67.38 ± 14.59	77.45 ± 15.04	5.39E-22
IMC	27.35 ± 5.23	27.52 ± 5.57	27.04 ± 4.57	0.156
Z-Score IMC	-5.32 E-06 ± 0.999	0.033 ± 1.06	0.058 ± 0.87	0.156
C Cintura	89.09 ± 13.31	87.29 ± 13.56	92.27 ± 12.23	1.29E-08
C Cadera	102.91 ± 10.85	103.71 ± 11.77	101.51 ± 8.85	0.001
Índice CC	0.864 ± 0.080	0.84 ± 0.07	0.907 ± 0.07	5.51E-38
PAS	117.83 ± 16.55	117.71 ± 17.24	118.05 ± 15.28	0.754
PAD	78.62 ± 10.41	78.24 ± 10.76	79.3 ± 9.75	0.124
Glucosa	99.21 ± 31.28	98.77 ± 32.92	99.99 ± 28.18	0.548
CT	205.85 ± 42.46	205.14 ± 41.03	207.09 ± 44.91	0.509
Creat	0.949 ± 0.440	0.867 ± 0.39	1.1 ± 0.48	1.08E-12
Úrico	5.38 ± 1.34	4.82 ± 1.06	6.406 ± 1.18	2.79E-66
TG	181.09 ± 138.37	165.33 ± 121.81	208.96 ± 160.03	1.53E-05
HDL	46.26 ± 12.49	49.2 ± 12.88	41.05 ± 9.84	6.49E-26
LDL	124.25 ± 34.32	123.11 ± 33.57	126.29 ± 35.61	0.195
APOA1	138.35 ± 24.95	143.25 ± 25.17	128.92 ± 21.63	2.96E-16
APOB	113.23 ± 42.323	110.22 ± 47.44	119.02 ± 28.96	0.001
Insulina	10.47 ± 7.75	10.7 ± 8.13	10.02 ± 6.97	0.215
Leptina	20.58 ± 15.78	25.87 ± 15.59	9.36 ± 8.76	6.89E-42
Adiponectina	11.49 ± 5.62	12.78 ± 5.97	8.742 ± 3.51	1.57E-19

Pas - Presión arterial sistólica, Pad - Presión arterial diastólica, CT - Colesterol total, Creat - Creatinina, Úrico - Acido úrico, TG - Triglicéridos, HDL - Lipoproteínas de alta densidad, LDL - Lipoproteínas de baja densidad.

Los datos se presentan como medias ± Desviación Estándar.

Prueba estadística: T para muestras independientes.

Tabla 2. Características antropométricas y bioquímicas de la población infantil

	Todos (n=1214)	Femenino n=639	Masculino n=575	P
Edad	11.33 ± 2.52	11.36 ± 2.57	11.30 ± 2.47	0.6840
Talla	1.478 ± 0.144	1.46 ± 0.13	1.49 ± 0.16	0.0002
Peso	48.24 ± 15.72	47.57 ± 15.05	48.99 ± 16.43	0.1210
IMC_per	74.62 ± 24.68	75.05 ± 23.32	74.13 ± 26.13	0.5230
Z-Score	0.898 ± 0.933	0.89 ± 0.87	0.91 ± 1.0	0.7880
C Cintura	74.02 ± 12.15	72.98 ± 11.49	75.18 ± 12.75	0.0020
C Cadera	78.85 ± 10.81	79.06 ± 11.03	78.61 ± 10.57	0.6240
Índice CC	0.892 ± 0.069	0.88 ± 0.07	0.91 ± 0.06	9.32 E-10

PAS_percentil	60.44 ± 18.97	59.32 ± 18.34	61.67 ± 19.60	0.1450
PAD_percentil	54.79 ± 13.99	54.65 ± 13.91	54.95 ± 14.12	0.8050
Glucosa	88.95 ± 9.12	87.42 ± 7.11	90.64 ± 10.69	1.39 E-09
CT	159.33 ± 30.49	160.66 ± 30.27	157.86 ± 30.71	0.1110
Creat	0.621 ± 0.097	0.62 ± 0.10	0.63 ± 0.09	0.2370
Úrico	5.081 ± 1.05	5.09 ± 1.07	5.08 ± 1.03	0.8750
Log_TG	1.995 ± 0.215	2.01 ± 0.20	1.98 ± 0.23	0.0080
TG	112.95 ± 73.35	114.94 ± 66.20	110.74 ± 80.54	0.3240
HDL	45.63 ± 10.98	45.95 ± 10.98	45.27 ± 10.98	0.2820
LDL	94.09 ± 25.26	94.84 ± 25.29	93.27 ± 25.23	0.2780
Insulina	8.37 ± 8.04	9.05 ± 9.36	7.66 ± 6.29	0.0390

Pas - Presión arterial sistólica, Pad - Presión arterial diastólica, CT - Colesterol total, Creat - Creatinina, Úrico - Acido úrico, TG - Triglicéridos, HDL - Lipoproteínas de alta densidad, LDL - Lipoproteínas de baja densidad.

Los datos se presentan como medias ± Desviación Estándar.

Prueba estadística: T para muestras independientes.

Tabla 3. Características antropométricas y bioquímicas de la población indígena.

	Todos (n=768)	Femenino (n=522)	Masculino (n=246)	P
Edad_años	46.70 ± 16.04	46.74 ± 15.48	46.63 ± 17.21	0.927
Peso	62.78 ± 14.51	60.37 ± 13.67	67.51 ± 14.99	1.88 E-07
IMC	27.00 ± 4.88	27.48 ± 4.91	25.99 ± 4.66	7.33 E-05
Z-Score		0.107 ± 1.013	-0.226 ± 0.923	9.15 E-06
Cintura	91.13 ± 13.12	90.1 ± 12.18	93.14 ± 14.61	0.007
Cadera	100.31 ± 11.49	101.71 ± 11.28	97.56 ± 11.42	7.59 E-06
Cintura/cadera	0.909 ± 0.078	0.887 ± 0.066	0.953 ± 0.082	2.50 E-23
PAS	128.55 ± 23.16	127.42 ± 23.06	130.95 ± 23.24	0.053
PAD	73.48 ± 12.07	72.97 ± 11.96	74.59 ± 12.26	0.091
Glucosa	115.85 ± 53.14	118.13 ± 56.99	11.02 ± 43.56	0.059
CT	189.65 ± 74.87	191.30 ± 80.85	186.13 ± 60.23	0.324
Creat	0.837 ± 0.19	0.771 ± 0.151	0.979 ± 0.179	4.99 E-44
Úrico	5.31 ± 1.35	4.903 ± 1.108	6.178 ± 1.412	4.48 E-30
TG	189.32 ± 107.83	182.49 ± 92.39	203.82 ± 133.95	0.025
HDL	41.80 ± 12.23	41.96 ± 10.76	41.47 ± 14.91	0.649
LDL	109.82 ± 33.30	111.17 ± 34.07	106.82 ± 31.42	0.102
APOA1	138.28 ± 25.09	141.04 ± 23.48	133.07 ± 27.21	0.005
APOB	104.02 ± 28.92	104.33 ± 29.83	103.44 ± 27.21	0.769
Insulina	13.36 ± 10.65	13.63 ± 10.23	12.83 ± 11.45	0.504
HOMA		3.634 ± 2.861	3.139 ± 3.619	0.227
Leptina	15.71 ± 11.83	18.79 ± 12.09	7.88 ± 6.26	1.12E-10
Adiponectina	10.81 ± 4.65	10.79 ± 4.19	10.83 ± 5.42	0.971

Pas - Presión arterial sistólica, Pad - Presión arterial diastólica, CT - Colesterol total, Creat - Creatinina, Úrico - Acido úrico, TG - Triglicéridos, HDL - Lipoproteínas de alta densidad, LDL - Lipoproteínas de baja densidad.

Los datos se presentan como medias ± Desviación Estándar.

Prueba estadística: T para muestras independientes.

Análisis de asociación de variantes a parámetros antropométricos asociados a obesidad en 3 cohortes de población adulta (mestiza e indígena) e infantil.

Tabla 4 (a). Análisis de asociación de variantes a parámetros antropométricos asociados a obesidad en población adulta mestiza.

ADULTOS n=945		GLUC			CT			TGC			INSULINA			HDL		
SNP	Gen	Tamaño del efecto	ES	P	Tamaño del efecto	ES	P	Tamaño del efecto	ES	P	Tamaño del efecto	ES	P	Tamaño del efecto	ES	P
rs7138803	BCDIN3/ FAIM2	-0.228	4.88	0.963	-1.341	6.095	0.826	2.361	21.293	0.912	0.911	1.178	0.439	-0.239	1.811	0.895
rs6548238	TMEM18	0.07	2.79	0.98	-1.55	3.5	0.658	6.337	12.149	0.602	-1.322	0.685	0.054	-0.491	1.052	0.641
rs7566605	INSIG2	-2.858	1.743	0.101	2.255	2.202	0.306	-5.228	7.641	0.494	-0.364	0.377	0.334	0.28	0.665	0.674
rs11084753	KCTD15	1.055	1.515	0.486	-2.103	1.923	0.274	-5.546	6.693	0.407	-0.026	0.364	0.943	0.23	0.557	0.69
rs10938397	GNPDA2	0.725	1.485	0.626	1.651	1.891	0.383	4.804	6.52	0.461	-0.052	0.358	0.884	-0.916	0.571	0.109
rs7498665	SH2B1	0.623	1.433	0.664	-0.427	1.817	0.814	3.399	6.308	0.59	-0.055	0.353	0.876	-0.575	0.545	0.292
rs10913469	SEC16B	2.364	1.773	0.183	1.459	2.235	0.514	9.765	7.802	0.211	-0.085	0.434	0.845	0.245	0.672	0.715
rs2815752	NEGR1	-1.754	1.701	0.303	1.846	2.128	0.386	2.498	7.476	0.738	-0.394	0.402	0.327	0.015	0.64	0.982
rs17782313	MC4R	-5.828	2.765	0.035	-1.763	3.542	0.619	5.491	12.271	0.653	-0.201	0.678	0.767	0.526	1.064	0.621
rs6265	BDNF	-0.591	2.091	0.778	-1.477	2.634	0.575	17.284	9.19	0.06	0.838	0.494	0.09	-1.51	0.789	0.056

Tabla 4 (b). Análisis de asociación de variantes a parámetros antropométricos asociados a obesidad en población indígena.

INDIGENAS n=768		GLUC			CT			TGC			INSULINA			HDL		
SNP	Gen	Tamaño del efecto	ES	P	Tamaño del efecto	ES	P	Tamaño del efecto	ES	P	Tamaño del efecto	ES	P	Tamaño del efecto	ES	P
rs17782313	MC4R	-15.86	8.965	0.077	8.9	12.502	0.477	10.445	18.145	0.565	1.193	2.153	0.58	1.413	2.045	0.49
rs7138803	BCDIN3	-1.282	14.799	0.931	0.546	20.326	0.979	33.117	29.462	0.261	-1.434	3.524	0.684	1.205	3.348	0.719
rs10938397	GNPDA2	-0.754	2.887	0.794	-5.357	4.102	0.192	9.447	5.841	0.106	0.164	0.754	0.828	-0.021	0.665	0.975
rs6548238	TMEM18	-3.099	6.078	0.61	2.247	8.476	0.791	-8.165	12.243	0.505	-0.284	1.48	0.848	-3.086	1.373	0.025
rs7498665	SH2B1	5.829	2.857	0.042	4.59	3.997	0.251	-6.782	5.739	0.238	-0.873	0.767	0.256	-0.067	0.648	0.918
rs2815752	NEGR1	-0.083	3.657	0.982	7.771	5.163	0.133	2.892	7.429	0.697	1.196	0.912	0.191	-1.026	0.835	0.22
rs6265	BDNF	4.899	4.706	0.298	-6.935	6.559	0.291	0.128	9.426	0.989	-1.563	1.269	0.219	-1.144	1.062	0.281
rs11084753	KCTD15	2.644	2.715	0.331	-2.475	3.857	0.521	-8.591	5.508	0.119	-0.042	0.709	0.952	-0.602	0.62	0.332
rs10913469	SEC16B	-1.8	3.076	0.559	-2.331	4.374	0.594	-9.49	6.288	0.132	-2.057	0.804	0.011	0.522	0.71	0.462
rs7566605	INSIG2	0.322	3.143	0.918	2.434	4.447	0.584	7.93	6.381	0.214	0.69	0.832	0.408	-0.38	0.716	0.596

Tabla 4 (c). Análisis de asociación de variantes a parámetros antropométricos asociados a obesidad en población infantil mestiza.

NIÑO	GLUC	CT	TGC
------	------	----	-----

n=1218					CT						INSULINA			HDL		
SNP	Gen	Tamaño del efecto	ES	P	Tamaño del efecto	ES	P	Tamaño del efecto	ES	P	Tamaño del efecto	ES	P	Tamaño del efecto	ES	P
rs7138803	BCDIN3	0.06	0.022	1.245	0.009	7.164	3.802	4.623	9.692	0.633	-0.342	0.668	0.61	1.488	1.397	0.287
rs10938397	GNPDA2	0.05	-0.214	0.397	0.319	-2.379	1.215	-3.312	3.08	0.282	0.405	0.475	0.394	-0.195	0.446	0.662
rs10913469	SEC16B	0.185	-0.6	0.482	0.73	-1.964	1.48	0.408	3.766	0.914	0.288	0.583	0.622	-0.131	0.542	0.81
rs2815752	NEGR1	0.332	-0.557	0.47	0.769	-1.396	1.44	-5.945	3.65	0.104	-0.55	0.595	0.355	-0.361	0.529	0.495
rs6548238	TMEM18	0.601	0.544	0.656	0.676	1.051	2.012	7.022	5.138	0.172	-0.136	0.853	0.873	-0.705	0.736	0.338
rs7498665	SH2B1	0.189	0.117	0.376	0.469	1.515	1.153	4.391	2.923	0.133	-0.172	0.433	0.691	-0.168	0.422	0.691
rs6265	BDNF	0.308	-0.33	0.527	0.048	-1.642	1.609	-8.922	4.096	0.03	0.582	1.497	0.698	0.058	0.592	0.922
rs17782313	MC4R	0.358	-0.137	0.701	0.74	-1.98	2.151	-2.961	5.469	0.588	0.322	0.908	0.723	-0.422	0.789	0.593
rs7566605	INSIG2	0.241	-0.511	0.44	0.468	1.581	1.348	10.777	3.432	0.002	-0.262	0.533	0.624	-0.698	0.494	0.158
rs11084753	KCTD15	0.533	-0.048	0.38	0.629	0.726	1.164	-3.393	2.961	0.252	0.223	0.454	0.623	0.102	0.427	0.811